

***Amphicerus bimaculatus* na cultura da vinha em  
Palmela, Portugal:  
contribuições para o estudo da sua bioecologia**

**Inês Isabel de Sousa Bento**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Viticultura e Enologia**

Orientador: Professor Catedrático, António Maria Marques Mexia

**Júri:**

Presidente:

Doutor Jorge Manuel Rodrigues Ricardo da Silva,  
Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

Doutor António Maria Marques Mexia,  
Professor Catedrático do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutor José Carlos Franco Santos Silva,  
Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutora Elsa Maria Borges da Silva,  
Técnica Superior do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar ao Professor António Mexia, pela proposta do tema e por toda a disponibilidade e ajuda na orientação.

Ao Professor José Carlos Franco e à Professora Elisabete Figueiredo, pelas vossas aulas que me deram a conhecer o mundo da Entomologia. Por todo o vosso apoio e preocupação demonstrada no decorrer desta tese, pelos conselhos e sugestões.

À Eng<sup>a</sup> Elsa Borges, pelo apoio e pela boa disposição. Mesmo estando cheia de trabalho, conseguia sempre um tempo para me ajudar! Tornou tudo muito mais fácil. Obrigada por todas as dicas e dúvidas que me retirou.

À Joana e à Vera, pela companhia no laboratório e por toda a disponibilidade e simpatia!

À Professora Manuela Branco, pela ajuda na escolha das armadilhas.

Aos técnicos da AVIPE, em especial à Eng<sup>a</sup> Ana Teresa Fernandes, pelo acompanhamento em campo e pela ajuda na instalação das armadilhas. Agradeço também aos viticultores que disponibilizaram as suas vinhas para a realização deste trabalho.

À Patrícia, pela ajuda em campo e revisão do inglês.

À FCUL e a Biologia, aquela casa que me trouxe tantas alegrias e amizades para a vida. Aos póneis, castores e pavões! Um agradecimento especial ao grupo das teses, pela companhia na escrita e depois da escrita.

À minha mana, pela companhia nas idas ao campo e, bem, a toda a hora! Obrigada por me fazeres mais feliz. Valeu a pena esperar por ti pequenina!

Aos meus pais, que me ajudaram a tornar-me na pessoa que sou hoje, pelos valores que me transmitiram e por estarem sempre presentes. Vocês são a minha inspiração! A ti pai, agradeço o empurrão para o mundo dos vinhos. Abriste-me as portas a uma nova paixão!

E a ti, Nuno, pelo teu apoio e carinho. Pela ajuda no trabalho de campo e por me apaziguares nos momentos mais difíceis. Obrigada por estares presente, sempre.

## RESUMO

*Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790) é um coleóptero xilófago da família Bostrichidae. Na cultura da vinha, as galerias causadas por esta espécie podem resultar em prejuízos económicos. Em Palmela, Portugal, este problema encontra-se presente, tornando-se urgente aprofundar os conhecimentos relativos a esta praga desenvolvendo métodos de proteção da cultura contra a praga.

Foram testadas armadilhas de atração cromática pretas e brancas e armadilhas de interseção e de funil *Lindgren*, tendo nestas duas últimas sido testadas as preferências pelos atrativos etanol e alfa-pineno, respetivamente. Não foram capturados indivíduos através destes métodos, sugerindo que as armadilhas não são adequadas para o efeito ou que o período de amostragem não englobou o período de voo da espécie. Em paralelo, foi efetuada uma captura de indivíduos em campo, procurando sarmentos da lenha de poda com orifícios, confirmando-se o agente biológico responsável, *A. bimaculatus*. Os indivíduos capturados foram mantidos em laboratório, onde se realizaram ensaios que permitiram acompanhar os diferentes estádios de desenvolvimento da espécie. Uma sub-amostra do total de indivíduos capturados participaram num ensaio na presença de videira. Foram observados comportamentos de alimentação, exploração do habitat, e sondagem do substrato com oviscapto em atitude de postura e os primeiros registos de posturas efetuadas pelas fêmeas desta espécie. Realizou-se ainda um ensaio para apurar a preferência cromática de *A. bimaculatus* a curta distância de acordo com os sexos, sendo que não foram observadas diferenças significativas nas cores testadas, para as fêmeas, ao contrário dos machos, o que poderá ser explicado pelas diferentes motivações de ambos os sexos.

Por fim, nas considerações finais, levantam-se hipóteses acerca do número de gerações anuais desta espécie na região de Palmela, são dados aconselhamentos de métodos de proteção, que passam essencialmente pela luta cultural, e são dadas sugestões de futuros estudos para validação das hipóteses colocadas.

**Palavras-chave:** Palmela, praga da vinha, Bostrichidae, *Amphicerus bimaculatus*, bioecologia

## ABSTRACT

*Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790), grape cane borer beetle, is a xylophagous beetle from the Bostrichidae family that feeds on the woody tissues of its host plants. When it comes to *Vitis* spp., this species can lead to substantial economic losses. In recent years in Palmela, Portugal, this problem has been of increasing concern, becoming urgent to gather more information regarding this pest as well as developing ways to deal with it.

Black and white flight traps, along with transparent traps baited with or without ethanol, as well as a Lindgren funnel trap baited with  $\alpha$ -Pinene were used to test for *A. bimaculatus* attraction. These traps did not capture any specimens, suggesting its ineffectiveness or that the sampling period did not match the flying period for this species. In line with this experiment, several specimens were collected on the field, by searching for damage on the leftover branches of vines from pruning, therefore confirming the biological agent responsible for the damage. The sampled specimens were taken to Instituto Superior de Agronomia, where they took part in several experiments. A subsample of these specimens were placed in the presence of a host. Several behaviors were observed, such as feeding, habitat and host prospection for breeding purposes and the first record of these species' eggs is presented. It was also studied the color preference on a short range for *A. bimaculatus* for both female and male. Females did not show a preference in color, however in males some differences were observed, which may be explained by distinctive life motivators in both genders.

In conclusion, hypotheses were stated for the number of generations on an annual cycle in the Palmela region. It was given advices for the pest control that are basically physical crop practices. It was also presented suggestions for further research.

**Key words:** Palmela, vineyard pest, Bostrichidae, *Amphicerus bimaculatus*, bioecology.

# ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO .....	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	1
2.1.	A família Bostrichidae.....	1
2.1.1.	O género <i>Amphicerus</i> .....	2
2.1.2.	<i>Amphicerus bimaculatus</i> (Olivier, 1790) .....	3
2.1.2.1.	Classificação taxonómica.....	3
2.1.2.2.	Sinonímia e nomes vulgares.....	3
2.2.	Distribuição geográfica.....	4
2.3.	Morfologia, ciclo de vida e estádios de desenvolvimento .....	5
2.4.	Hábitos e preferências .....	7
2.5.	Captura de bostriquídeos.....	8
2.6.	Meios de proteção .....	9
2.7.	Objetivos .....	11
3.	MATERIAIS E MÉTODOS .....	12
3.1.	Área de estudo .....	12
3.2.	Ação na videira e prejuízos.....	14
3.3.	Amostragem da população de <i>Amphicerus bimaculatus</i> .....	16
3.4.	Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos .....	17
3.4.1.	Ensaio com armadilhas em campo.....	17
3.4.2.	Preferência cromática de <i>Amphicerus bimaculatus</i> a curta distância .....	21
3.5.	Estudo dos estados de desenvolvimento de <i>Amphicerus bimaculatus</i> .....	23
3.5.1.	Determinação da duração do tempo de vida do adulto em cativeiro .....	23
3.5.2.	Dimensões dos adultos.....	24
3.5.3.	Biologia de <i>Amphicerus bimaculatus</i> no contexto da presença de hospedeiro .....	25
3.5.4.	Larvas, pupas e determinação do número de instares larvares .....	27
4.	RESULTADOS.....	29
4.1.	Ação na videira e prejuízos.....	29
4.2.	Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos .....	32
4.2.1.	Ensaio com armadilhas em campo.....	32
4.2.2.	Preferência cromática de <i>Amphicerus bimaculatus</i> a curta distância .....	33
4.3.	Estudo dos estados de desenvolvimento de <i>Amphicerus bimaculatus</i> .....	34
4.3.1.	Determinação da duração do tempo de vida do adulto em cativeiro .....	35
4.3.2.	Dimensões dos adultos.....	36
4.3.3.	Biologia de <i>Amphicerus bimaculatus</i> no contexto da presença de hospedeiro .....	37

4.3.4.	Larvas, pupas e determinação do número de instares larvares .....	41
5.	DISCUSSÃO .....	45
5.1.	Ação na videira e prejuízos.....	45
5.2.	Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos .....	46
5.3.	Estudo dos estados de desenvolvimento de <i>Amphicerus bimaculatus</i> .....	48
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	53
8.	ANEXOS.....	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Mapa da distribuição ibérica de <i>Amphicerus bimaculatus</i> (a numeração indica presença) (adaptado de Bahillo et al., 2007) .....	5
<b>Figura 2</b> – Mapa de distribuição de <i>Amphicerus bimaculatus</i> em Portugal (a sinalização (•) indica presença) (adaptado de Baena e Zuzarte, 2013) .....	5
<b>Figura 3</b> – Pormenor do pronoto de <i>Amphicerus bimaculatus</i> . De notar as cristas, a pubescência amarelada e as manchas branco-grisalhas em ambos os lados (original da autora).....	7
<b>Figura 4</b> – Dimorfismo sexual em <i>Amphicerus bimaculatus</i> . <b>A</b> – apófises corniformes em macho. <b>B</b> – fêmea com calosidades pouco desenvolvidas (ausência de apófises). <b>C</b> – detalhe das apófises corniformes dos machos. <b>D</b> – detalhe dos dentículos dos machos (originais da autora).....	7
<b>Figura 5</b> – Estragos causados por <i>Amphicerus bimaculatus</i> em videira. <b>A</b> – orifício de entrada na proximidade do nó. <b>B</b> – galeria de adulto. <b>C</b> – galeria de larva. (originais da autora). ....	9
<b>Figura 6</b> – Localização da área de estudo (Palmela, Setúbal) e dos locais de amostragem das vinhas selecionadas (adaptado de Infovini, 2009 e Google Maps, 2015). ....	13
<b>Figura 7</b> – Frasco de plástico coberto com pano para guardar os indivíduos de <i>Amphicerus bimaculatus</i> em laboratório (esquerda). No interior, sarmento com galeria e alimento (direita) (originais da autora). ....	17
<b>Figura 8</b> – Placa acrílica utilizada nas armadilhas em campo, 150 x 210 x 3 mm, de cor transparente (original da autora).....	18
<b>Figura 9</b> – Armadilhas de interseção transparentes de dimensões 150 x 210 x 3 mm com e sem atrativo, instaladas no ensaio de campo. À esquerda, armadilha com etanol e à direita, armadilha sem etanol, cobertas com cola Napvis numa área de 150 x 150 mm (originais da autora). ....	18
<b>Figura 10</b> – Armadilhas cromotrópicas de dimensões 150 x 210 x 3 mm, instaladas na vinha. À esquerda, armadilha preta e à direita, armadilha branca, cobertas com cola Napvis numa área de 150 x 150 mm (originais da autora). ....	19
<b>Figura 11</b> – Armadilhas de interseção transparentes instaladas junto aos montes de poda. À esquerda, vinha Rui Lobo (vinha A). À direita, vinha Vasco Machado (vinha C). (Palmela, Setúbal) (originais da autora). ....	20
<b>Figura 12</b> – Armadilha de funis <i>Lindgren</i> instalada na vinha Fernando Santana (vinha B) (Palmela, Setúbal), à cabeceira de uma linha (original da autora). ....	21
<b>Figura 13</b> – Caixa acrílica compartimentada (dimensões das secções: 30 x 15 x 11,5 cm e diâmetro da arena central: 30 cm) forrada com a sequência de cores escolhida (preto, castanho, verde e vermelho) para o ensaio da preferência cromática de <i>Amphicerus bimaculatus</i> a curta distância (original da autora).....	22
<b>Figura 14</b> – Medição do comprimento de adulto de <i>Amphicerus bimaculatus</i> desde o limite anterior do pronoto até ao limite posterior do abdómen (original da autora). ....	24
<b>Figura 15</b> – Caixa acrílica de dimensões 40 x 21 x 67 cm utilizada no ensaio com duas videiras da casta Aragonez no interior com o objetivo de estudar a biologia de <i>Amphicerus bimaculatus</i> (N=15, 4 machos e 11 fêmeas) (original da autora).....	26
<b>Figura 16</b> – Disposição do alimento e dos troços de sarmento da casta Castelão na base do vaso utilizado no ensaio em videira da casta Aragonez (original da autora). ....	27
<b>Figura 17</b> – Larva escarabeiforme de <i>Amphicerus bimaculatus</i> presente nos sarmentos recolhidos do campo (original da autora).....	28
<b>Figura 18</b> – Número de sarmentos totais contabilizados em função do número de orifícios por sarmento. ....	29
<b>Figura 19</b> – Distribuição de frequências dos orifícios ao longo do sarmento (1 = gomo da coroa).....	30

<b>Figura 20</b> – Exemplos vários de indivíduos oportunistas das galerias produzidas por <i>Amphicerus bimaculatus</i> (A – pupa de lepidóptero; B – caracóis; C – abelha solitária; D – formigas; E – ovos de aranhas; F – larva de abelha solitária; G – hemíptero; H – células de abelhas solitárias e I – ovo) (originais da autora). ....	31
<b>Figura 21</b> – <i>Denops albofasciatus</i> (Charpentier, 1825) (Coleoptera, Cleridae) encontrado em sarmento com galeria de <i>Amphicerus bimaculatus</i> proveniente da vinha Rui Lobo, Poceirão (vinha A) (original da autora). ....	31
<b>Figura 22</b> – Exemplares das morfoespécies de Bostrichidae (A e B) e Scolytidae (C e D) capturados em armadilhas no campo, nas vinhas estudadas (Palmela, Setúbal) (originais da autora). ....	32
<b>Figura 23</b> – Ensaio para a preferência cromática de <i>Amphicerus bimaculatus</i> cujas cores testadas foram preto, verde, castanho e vermelho: resultados do teste de $\chi^2$ para as fêmeas (N = 36). ....	33
<b>Figura 24</b> – Ensaio para a preferência cromática de <i>Amphicerus bimaculatus</i> cujas cores testadas foram preto, verde, castanho e vermelho: resultados do teste de $\chi^2$ para os machos (N = 35). ....	34
<b>Figura 25</b> – Ciclo de vida de <i>Amphicerus bimaculatus</i> (A – ovo; B – larva; C – pupa e D – adulto) (originais da autora). ....	34
<b>Figura 26</b> – Diagrama de extremos e quartis para a duração do tempo de vida (dias) em função do sexo. ....	36
<b>Figura 27</b> – Diagrama de extremos e quartis com a análise das dimensões de acordo com a geração (geração do ano anterior, geração do ano sem restrição de alimento e geração do ano com restrição de alimento). Os parâmetros seguidos pelas mesmas letras não apresentaram diferenças significativas. ....	37
<b>Figura 28</b> – Início de perfuração de <i>Amphicerus bimaculatus</i> em videira utilizada no ensaio em planta hospedeira (original da autora). ....	38
<b>Figura 29</b> – Fêmea de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , assinalada com círculo branco, a sondar o substrato de uma videira com oviscapto de fora no ensaio em videira da casta Aragonez (excertos retirados de vídeo da autora). ....	38
<b>Figura 30</b> – Pormenor do oviscapto da fêmea de <i>Amphicerus bimaculatus</i> em atitude de postura (excertos retirados de vídeo da autora). ....	39
<b>Figura 31</b> – À esquerda, corte do sarmento onde foram observadas posturas de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , no ensaio em planta hospedeira. À direita, alguns ovos depositados no substrato (originais da autora). ....	39
<b>Figura 32</b> – Orifícios de entrada das larvas de <i>Amphicerus bimaculatus</i> no sarmento, na periferia do corte (indicados pelas setas a vermelho) (original da autora). ....	40
<b>Figura 33</b> – Galerias larvares provocadas pelas larvas eclodidas das posturas feitas pelas fêmeas de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , em videira no ensaio em planta hospedeira (originais da autora). ....	40
<b>Figura 34</b> – Estruturas altamente esclerotizadas de formato piramidal, encontradas no serrim proveniente das galerias das larvas de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , correspondentes às mandíbulas dos instares larvares (original da autora). ....	41
<b>Figura 35</b> – Cápsula cefálica do último instar larvar de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , estrutura encontrada no serrim presente nas galerias produzidas pelas larvas. À esquerda, vista externa, à direita, vista interna (original da autora). ....	42
<b>Figura 36</b> – Membrana correspondente à muda do último instar larvar de <i>Amphicerus bimaculatus</i> , presente nas galerias produzidas pelas larvas (original da autora). ....	42
<b>Figura 37</b> – Diferentes peças encontradas na galeria de uma larva de <i>Amphicerus bimaculatus</i> : três mandíbulas de diferentes tamanhos e uma cápsula cefálica (original da autora). ....	43
<b>Figura 38</b> – Pupa de <i>Amphicerus bimaculatus</i> presente nos sarmentos recolhidos do campo nas vinhas estudadas (Palmela, Setúbal) (original da autora). ....	44



<b>Figura 39</b> – Adulto de <i>Amphicerus bimaculatus</i> em maturação. À esquerda, adulto branco recém-emergido e à direita, adulto já a adquirir as tonalidades da forma final (originais da autora). .....	44
<b>Figura 40</b> – Armadilha etanólica modelo ESALQ-84 (adaptado de Flechtmann e Filho (1986)). .....	47

## ÍNDICE DE QUADROS

**Quadro 1** – Avaliação da intensidade de ataque para as três vinhas em estudo: Rui Lobo, Poceirão (vinha A), Fernando Santana, Fonte da Barreira (vinha B) e Vasco Machado, Fernando Pó (Vinha C) (N/D: não disponível).....14

**Quadro 2** – Ocorrência sazonal de *Amphicerus bimaculatus* (a verde ocorrência em campo, a azul ocorrência em laboratório). Entre outubro e fevereiro não há dados para suportar a ocorrência sazonal. **A** – início dos trabalhos de campo. **B** – fim dos trabalhos de campo. **C** – fim dos trabalhos de laboratório.....31

## 1. INTRODUÇÃO

*Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790) (Coleoptera, Bostrichidae), é um coleóptero xilófago da família Bostrichidae. Ocupa vários hospedeiros vegetais, entre os quais a cultura da vinha, efetuando galerias e orifícios que podem, por sua vez, originar prejuízos económicos, sendo por isso considerado uma praga.

Em Palmela, Portugal, esta praga encontra-se presente, já há alguns anos, originando queixas recorrentes por parte dos viticultores da região. Por este motivo, a Associação de Viticultores do Concelho de Palmela (AVIPE), uma associação reconhecida para a prática de Proteção Integrada da Vinha, encontrava-se interessada no estudo desta praga. Esta dissertação surgiu então de um pedido de auxílio por parte desta Associação.

Partiu-se de um conhecimento muito limitado do problema, tendo-se apenas a confirmação da presença, na região de Palmela, de *Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790), identificado pelo taxonomista de bostríquídeos, Manuel Baena, assim como uma presença provável de *Sinoxylon sexdentatus* (Olivier, 1790), através do laboratório de Entomologia do Instituto Superior de Agronomia (ISA) (Ana Teresa Fernandes, AVIPE, comunicação pessoal, 2015).

Tendo em conta a importância económica desta praga e a falta de informação existente relativamente à mesma, nomeadamente no que respeita ao seu ciclo de vida em Palmela, Portugal e à sua ação e prejuízo na vinha, é compreensível a urgência em abordar o assunto e aprofundar conhecimentos sobre o problema.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. A família Bostrichidae

Bostrichidae Latreille, 1802 é uma família de coleópteros xilófagos com grande interesse agrícola e florestal. Inclui cerca de 90 géneros e 600 espécies, a nível mundial (Ślipiński e Lawrence, 2013) e na Europa encontram-se presentes 21 géneros e 49 espécies (López-Pérez, 2012). Esta família reúne uma série de pragas agrícolas, florestais e de produtos armazenados. Os insetos deste grupo podem causar estragos tanto em madeira seca e morta como em plantas vivas, e ainda em produtos alimentares, especialmente em sementes (Bahillo *et al.*, 2007). Constituem, assim, um grupo com uma considerável importância económica, sendo o seu estudo de crescente interesse, já que originam, em certos casos, prejuízos significativos.

O registo mais antigo desta família está preservado em âmbar proveniente do Cretáceo médio (Peris, 2014).

Em Portugal, a fauna de bostríquídeos não está vastamente conhecida, sendo muito do conhecimento existente resultado de publicações antigas, nomeadamente do primeiro terço do século XX. Existem cerca de 30 espécies de bostríquídeos descritas, nativas e introduzidas. Na Península Ibérica, o número é ligeiramente maior, contando com a representação de 41 espécies desta família (Baena e Zuzarte, 2013).

Ainda não há muitos anos, a fauna descrita para Portugal era de apenas 14 espécies englobadas em 9 géneros e para a Península Ibérica era de 22 géneros e 33 espécies (Bahillo *et al.*, 2007). Sendo assim, Baena e Zuzarte (2013) contribuíram para o melhoramento dos dados relativos à família Bostrichidae, reunindo a literatura de vários autores e examinando os exemplares recolhidos por um dos autores.

Muitas das espécies são autóctones, porém, algumas resultam da importação acidental através da comercialização de plantas e madeiras (Bahillo e López-Colón, 2001) ou do transporte acondicionado em caixas de madeira (Nardi e Mifsud, 2015).

Considerando os bostríquídeos presentes na Península Ibérica, aqueles que estão referidos como tendo a videira como hospedeiro são *Apate monachus* Fabricius, 1775, *Bostrichus capucinus* (Linnaeus, 1758), *Amphicerus bamatus* (Fabricius, 1787), *Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790), *Sinoxylon sexdentatus* (Olivier, 1790), *Sinoxylon perforans* (Schränk, 1789), *Xylopertha retusa* (Olivier, 1790), *Scobicia pustulata* (Fabricius, 1801). Destes, apenas *A. monachus* e *A. bamatus* não estão presentes em Portugal (Bahillo *et al.*, 2007).

### **2.1.1. O género *Amphicerus***

O género *Amphicerus* LeConte, 1861 sofreu uma evolução acentuada em termos de nomenclatura. LeConte, 1861 elegeu o género *Amphicerus* sem designar nenhum tipo específico. Posteriormente, Waterhouse (1888) nomeou o género *Caenophrada* para a sua nova espécie descoberta na Índia, contudo, Lesne (1838), reconheceu-o como sinónimo de *Amphicerus*.

O género *Schistoceros* foi eleito por Lesne (1899) para 11 espécies (sem designar tipos específicos). Posteriormente constatou que *Amphicerus* LeConte tinha sido precedido por *Amphicerus* Gray, 1847 para moluscos. Já em 1937 anulou a sua decisão e dividiu o género em dois subgéneros, conservando o nome *Amphicerus* para as espécies em que ambos os sexos possuem ápices no protórax e

*Schistoceros* para as espécies cujas fêmeas ou ambos os sexos apresentam o protórax desarmado destas protuberâncias (Fisher, 1950).

Ivie (2010) esclarece a questão da nomenclatura do género: *Schistoceros* Lesne, 1899 não é uma substituição apropriada para *Amphicerus* LeConte, 1861, sendo por isso uma sinonímia inválida. Também a apropriação de *Schistoceros* para subgénero de *Amphicerus* é inválida. *Amphicerus* não possui portanto subgéneros válidos.

### **2.1.2. *Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790)**

#### **2.1.2.1. Classificação taxonómica**

A espécie *Amphicerus bimaculatus* é classificada da seguinte forma (Integrated Taxonomic Information System, 2015):

**Reino:** Animalia

**Filo:** Arthropoda

**Subfilo:** Hexapoda

**Classe:** Insecta

**Ordem:** Coleoptera

**Subordem:** Polyphaga

**Superfamília:** Bostrichoidea

**Família:** Bostrichidae

**Subfamília:** Bostrichinae

**Género:** *Amphicerus* LeConte, 1861

**Espécie:** *Amphicerus bimaculatus* (Olivier, 1790)

#### **2.1.2.2. Sinonímia e nomes vulgares**

Na literatura existente, encontram-se vários sinónimos para a espécie *Amphicerus bimaculatus*, entre os quais *Apate aurita* Frivaldsky, 1835, *Bostrichus bimaculatus* Olivier, 1790, *Schistoceros bimaculatus* Lesne, 1899 e *Apate bimaculatus* Herbst, 1793.

A forma correta do epíteto específico é *bimaculatus*, sendo qualquer outra forma, como *bimaculata*, uma incorreta pronúncia (Nardi e Mifsud, 2015).

Quanto aos nomes vulgares, estes dependem da língua de cada país. Em inglês por exemplo, *A. bimaculatus* é conhecido por “grape cane borer beetle” (Tsagkarakis, 2012). Já em Espanha, “taladros

de la madera en vid” é utilizado para denominar esta espécie e outras (MAAMA, 2014). “Barrenillo” é também um termo geral utilizado em Espanha para referir vários insetos coleópteros capazes de furar a madeira, para várias culturas, exemplificando, “barrenillo de la vid” ou “barrenillo del olivo”. Porém, em alguns trabalhos generalistas surge exclusivamente associado a *Sinoxylon sexdentatus* (MAPA, 1992). Esta estreita associação poderá ser explicada pelo facto de a espécie estar mais disseminada pelo país.

## 2.2. Distribuição geográfica

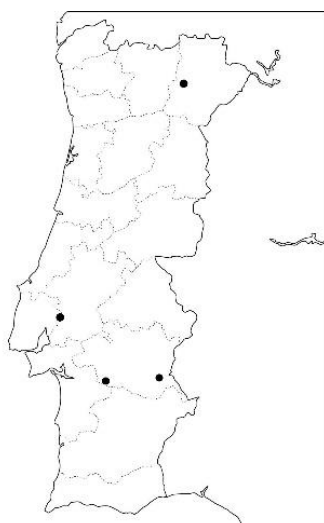
A origem de *A. bimaculatus* não é conhecida. Encontra-se distribuído, regionalmente, pela Europa meridional, região mediterrânica (Borowski e Węgrzynowicz, 2007), especificamente com referências na Grécia (Saivanidis, 2013) e na Itália, em Lazio (Ciampolini *et al.*, 1989) e em Puglia (Moleas, 1988). A sua distribuição continua pela Ásia Menor (Fisher, 1950). Apesar de vaga e imprecisa, a referência à Ásia Menor permite, ainda assim, ter a noção de que a espécie terá presença na região, nomeadamente na Turquia. O mesmo autor refere que a espécie foi intercetada em portos em Nova Iorque, em raízes importadas da Turquia, reforçando a possível presença no país. *Amphicerus bimaculatus* é pouco frequente no Norte de África, conhecendo-se a sua incidência em Marrocos, Argélia (Bahillo *et al.*, 2007) e na Tunísia. Os registos de ocorrência da espécie estendem-se até à Hungria e ao Azerbaijão, Tajiquistão e Quirguistão. Registos possíveis na Alemanha, Iraque e Uruguai foram mais tarde ignorados ou nunca confirmados (Nardi e Mifsud, 2015).

Vastamente presente na Península Ibérica (Figura 1), *A. bimaculatus* ocupa uma faixa ao longo do litoral Sul e Este, tendo sido obtidos registos em Portugal em Alcáçovas e Reguengos de Monsaraz (Alto Alentejo), Salvaterra de Magos (Ribatejo) e Cedais (Trás-os-Montes) (Figura 2) (Baena e Zuzarte, 2013).

Os mapas apresentados nas Figuras 1 e 2 correspondem, respetivamente, à distribuição de *A. bimaculatus* na Península Ibérica e em Portugal. O primeiro mapa foi feito a partir de dados existentes até 2007 enquanto no segundo foram utilizados dados reunidos até 2013, sendo por isso mais recente. Por este motivo, alguns dos pontos marcados para Portugal não coincidem nos dois mapas.



**Figura 1** – Mapa da distribuição ibérica de *Amphicerus bimaculatus* (a numeração indica presença) (adaptado de Bahillo *et al.*, 2007)



**Figura 2** – Mapa de distribuição de *Amphicerus bimaculatus* em Portugal (a sinalização (•) indica presença) (adaptado de Baena e Zuzarte, 2013)

### 2.3. Morfologia, ciclo de vida e estádios de desenvolvimento

O ciclo de vida de *A. bimaculatus* inclui os estados de ovo, larva, pupa e adulto (Ciampolini *et al.*, 1989). A sua biologia, relativamente aos estádios imaturos, é pouco conhecida.

Relativamente aos ovos de coleópteros, para além da variação normal entre espécies no que respeita ao tamanho, forma e cor, entre outros, existe ainda uma variação considerável dentro de cada espécie. Esta variação depende de vários fatores, entre os quais a idade e tamanho da fêmea, o seu estado nutricional e ainda a altura durante o período de postura na qual cada ovo é depositado (LeCato

e Flaherty, 1974). Os adultos desta família não efetuam posturas nas galerias escavadas (Flechtmann *et al.*, 1996).

Generalizando, a maioria das larvas de bostriquídeos atacam a madeira (Nardi e Zahradník, 2004) e vários produtos vegetais armazenados (Bahillo *et al.*, 2007) e como organismos saprófitos que são, desempenham um papel muito importante na decomposição de matéria-prima (Nardi e Mifsud, 2015).

As larvas de bostriquídeos são caracterizadas, na sua maioria, por serem escarabeiformes (forma de “C”), com o corpo ligeiramente esclerotizado e uma cor branco-amarelada. O corpo é alongado e cilíndrico, podendo ser ligeiramente achatado e o seu comprimento é bastante variável, medindo entre 2 - 60 mm. A pubescência é geralmente curta e fina e, por vezes, algumas sedas mais compridas podem surgir. A cabeça, prognata, é retraída no protórax (Cline *et al.*, 2009). No seu ciclo de desenvolvimento passam por quatro ou cinco instares, sendo nos primeiros em que se dão mudanças morfológicas mais profundas (Bahillo *et al.*, 2007).

Fisher (1950) e Bahillo *et al.* (2007) descrevem a morfologia externa de *A. bimaculatus*. O adulto desta espécie mede, em média, um comprimento de 5 - 11 mm e uma largura de 2 - 3,2 mm. Alongado e cilíndrico, de lados paralelos, apresenta um pronoto tão largo como os élitros. O tegumento é negro ou acastanhado escuro, com as antenas, os palpos e os tarsos castanho-amarelados.

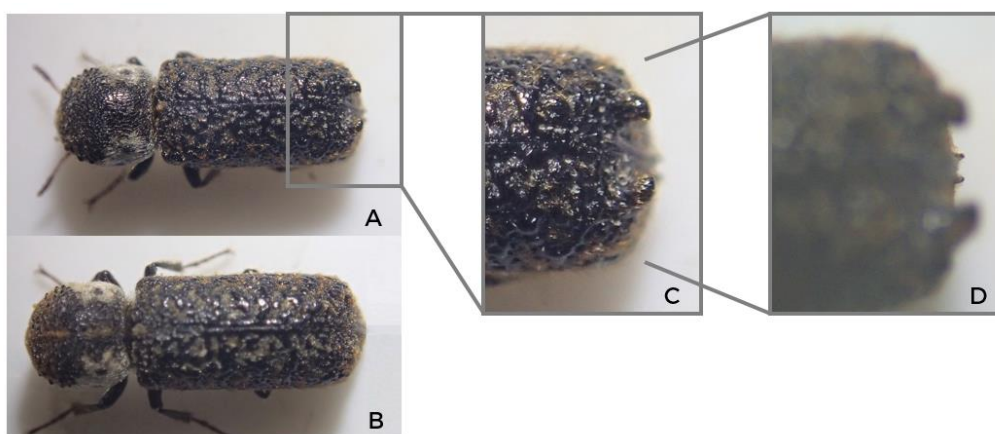
Os mesmos autores descrevem *A. bimaculatus* como tendo a cabeça mais estreita que o pronoto e inserida obliquamente no mesmo, com uma posição ventral, típica dos bostriquídeos. A cabeça apresenta uma textura fortemente pontilhada, com cristas estreitas entre os espaços. Sobre o clipeo e a parte frontal da cabeça existe uma pubescência dourada. Também o pronoto, com uma forma quadrada mas arredondada na frente, apresenta uma forte pontuação. A metade anterior do pronoto é dentiforme e revestida de uma pubescência amarelada. Na metade basal, em ambos os lados, localiza-se uma pubescência branco-grisalha que cobre o tegumento com exceção de pequenas áreas circulares onde o tegumento fica a descoberto com a sua cor negra (Figura 3). Os élitros são desiguais em altura ao longo do seu comprimento, com uma altura no meio semelhante à do pronoto mas maior na parte posterior. A sua superfície revela uma textura sinuosa, com relevos bem proeminentes e brilhantes. O abdómen dispõe de uma pubescência branca densa e longa.





**Figura 3** – Pormenor do pronoto de *Amphicerus bimaculatus*. De notar as cristas, a pubescência amarelada e as manchas branco-grisalhas em ambos os lados (original da autora).

*Amphicerus bimaculatus* apresenta dimorfismo sexual. É nos élitros que se pode encontrar alguma diferenciação entre machos e fêmeas. Nos machos, o declive apical mostra uma forte pontuação não granulada, com duas apófises corniformes na parte superior, e um pequeno dentículo no ângulo apical de cada lado da margem sutural. Já as fêmeas possuem um declive apical com uma pontuação desigual e granulada, sem dentículos nem apófises, mas sim com uma calosidade arredondada pouco desenvolvida (Figura 4) (Fisher, 1950; Bahillo *et al.*, 2007).



**Figura 4** – Dimorfismo sexual em *Amphicerus bimaculatus*. **A** – apófises corniformes em macho. **B** – fêmea com calosidades pouco desenvolvidas (ausência de apófises). **C** – detalhe das apófises corniformes dos machos. **D** – detalhe dos dentículos dos machos (originais da autora).

#### 2.4. Hábitos e preferências

Bahillo *et al.* (2007) descreveu uma hipótese, a partir dos dados disponíveis, para o ciclo biológico de *A. bimaculatus* na Península Ibérica. Segundo este autor, as larvas desenvolvem-se preferencialmente em videiras debilitadas ou secas. No final do verão, os indivíduos estarão a pupar e passadas umas semanas, os adultos emergidos realizarão um orifício circular de 2 - 4 mm de diâmetro,

por onde saem. Este orifício localiza-se, por norma, nas proximidades dos nós do sarmento. Estes adultos realizam então outro orifício para penetrarem de novo na videira, onde vão passar o inverno. Pode dar-se o caso de o adulto não chegar a sair para fora do sarmento durante o inverno, fazendo-o apenas na primavera seguinte. Segundo este autor, a espécie terá apenas uma geração anual, de acordo com as suas observações, para a Península Ibérica.

De acordo com Ciampolini *et al.* (1989), em Itália esta espécie também completa apenas uma geração anual. Acrescentam alguma informação, nomeadamente acerca da hibernação dos adultos, que é passada na lenha de poda, no campo ou nas proximidades do mesmo, ou então em ramos atempados da videira, na qual fazem galerias longitudinais e descendentes, bloqueando a saída com serrim compacto. A atividade é retomada na primeira quinzena de maio e, por fim, em julho, são efetuadas as primeiras posturas, que dão origem a larvas após 10 – 12 dias de incubação.

Como hospedeiros vegetais para esta espécie estão referenciados, para além da videira, *Vitis spp.*, vários hospedeiros alternativos, como *Tamarix spp.*, *Lycium sp.* (Baena e Zuzarte, 2013), *Acacia sp.*, *Annona cherimola*, *Cerasus sp.*, *Citrus sp.*, *Delonix regia*, *Ficus carica*, *Olea europea*, *Prunus amygdalus*, *Punica granatum*, *Pyrus malus* e *Tamarindus indica* (Nardi e Mifsud, 2015).

## **2.5. Captura de bostríquídeos**

Muitas espécies de coleópteros que utilizam plantas lenhosas como seus hospedeiros respondem a dois tipos de estímulos na sua procura e seleção (atração primária). Numa primeira fase, a longa distância, o odor dos hospedeiros serve para orientar os coleópteros na sua direção (estímulo químico). Uma vez na sua proximidade, a componente visual entra em ação, em aspetos como a cor, a forma e o diâmetro, para a decisão na sua seleção (Flechtmann *et al.*, 1997).

Flechtmann *et al.* (1997) testaram a influência das cores de armadilhas na captura de bostríquídeos, utilizando para o efeito armadilhas transparentes ou pintadas com as cores vermelha, verde, branca, castanha, preta e amarela. Os autores constataram que cores das armadilhas contrastantes em relação às cores das plantas hospedeiras causam um efeito repelente. Testaram também o efeito atrativo químico do etanol, obtendo resultados positivos. O etanol mostrou-se um bom atrativo para a família Bostrichidae. As armadilhas foram instaladas a 1,0 m do solo e foi usado etanol comercial. As armadilhas iscadas com etanol capturaram mais exemplares. As armadilhas pretas e castanhas capturaram significativamente mais indivíduos da família do que as cores contrastantes ao hospedeiro, como amarelo e branco, que capturaram menos exemplares. Num ensaio paralelo, compararam o efeito das armadilhas amarelas com o das armadilhas transparentes, ambas com

atrativo etanol. As armadilhas transparentes capturaram significativamente mais exemplares que as amarelas, sugerindo um efeito repelente da cor amarela. Globalmente, neste estudo, o maior número de exemplares foi capturado nas armadilhas transparentes, pretas e castanhas.

Num outro estudo, Flechtmann *et al.* (1996) compararam a altura preferencial de voo de bostriquídeos usando armadilhas de impacto do tipo ESALQ-84 (Flechtmann e Filho, 1986) acompanhadas de etanol a 96° para efeito atrativo. Foi observada uma preferência por voos mais altos. Notou-se também dois picos distintos de captura, nos meses de outubro/novembro e nos meses de abril/maio.

Também Filho *et al.* (2012) estudaram a altura de voo da família Bostrichidae, testando armadilhas com alturas desde 1 a 35 m, concluindo que maiores ocorrências ocorrem em alturas mais elevadas, com capturas da maioria das espécies da família significativamente maiores aos 30 m.

De notar que ambos os estudos de Flechtmann (1996 e 1997) e o estudo de Filho *et al.* (2012) decorreram em ambiente florestal, para pinheiros tropicais. Será lógica uma altura preferencial de voo mais baixa para bostriquídeos em culturas agrícolas como o caso da vinha.

## 2.6. Meios de proteção

Segundo Amaro (2003), entende-se por praga qualquer organismo animal nocivo para as culturas.

Os estragos causados por *A. bimaculatus* consistem nos orifícios e galerias efetuados pelos adultos e pelas larvas (Figura 5).



**Figura 5** – Estragos causados por *Amphicerus bimaculatus* em videira. **A** – orifício de entrada na proximidade do nó. **B** – galeria de adulto. **C** – galeria de larva. (originais da autora).

O controlo de bostriquídeos, assim como quaisquer outras coleobrocas, enfrenta algumas dificuldades, uma vez que, aquando da deteção de sinais visíveis de destruição, como orifícios e

galerias, o estrago já se encontra feito, sendo por isso a aplicação de químicos ineficaz e tardia. A aplicação localizada de produtos nem sempre atinge a população em trânsito. Além do mais, o combate direto não tem em conta o combate natural de predadores e parasitóides (Filho *et al.*, 2012).

Estão referenciados alguns predadores naturais de bostriquídeos, nomeadamente alguns cléridos (Coleoptera: Cleridae) como *Denops albofasciatus* (Charpentier, 1825), *Tilloidea unifasciata* (Fabricius, 1787) e *Tarsostenus univittatus* (Rossi, 1792) (Bahillo *et al.*, 2007). Segundo Moleas (1988), *D. albofasciatus* é um predador natural de *A. bimaculatus*, mas parece ser incapaz de conter as populações da praga em questão, quando as condições ambientais são favoráveis ao seu desenvolvimento. Outros géneros como *Teloclerus*, *Thanasimus*, *Clerus* ou *Allonyx* poderão também ser predadores naturais de espécies da família Bostrichidae. O seu estudo será importante numa perspectiva de controlo biológico destes insetos (Bahillo *et al.*, 2007).

Gumovsky (2010) retrata o grupo Hymenoptera, Chalcidoidea como potencial agente no biocontrolo da família Bostrichidae, sendo seis as espécies de parasitóides registadas como associadas a esta família e, apenas uma destas, *Entedon stephanopachi* (Hedqvist, 1959), considerada especialista deste grupo, possuindo uma distribuição europeia.

Em Portugal, não existem produtos homologados para *A. bimaculatus* na vinha, nem tão pouco se encontram referências à espécie no Guia de Proteção Integrada da Cultura da Vinha (DGADR, 2005). A praga mais semelhante encontrada é o caruncho da oliveira, *Phloeotribus scarabaeoides* (Bernard, 1788) (Coleoptera, Curculionidae), para a qual não existem substâncias ativas homologadas, em Portugal, sendo apenas aconselhadas medidas de luta cultural (DGADR, 2010).

De facto, nem nos manuais portugueses acerca de doenças e pragas da videira como o de Urbano Moreira (2015) se encontram referências a *A. bimaculatus* ou a outras espécies da mesma família. Contudo, em Espanha, já se encontra referida *A. bimaculatus* como praga existente, assim como outros “taladros de madeira”, não existindo porém produtos homologados para o seu tratamento químico nesta cultura (MAAMA, 2014). Também em Itália, já se encontram referências a *A. bimaculatus* e outros bostriquídeos no recente manual de entomologia vitícola de Lucchi (2014). Tanto em Espanha como em Itália se propõem medidas culturais como meio de proteção, reforçando a inutilidade da aplicação de produtos químicos. Lucchi (2014) propõe um método para o controlo da praga que consiste em atar vários sarmentos de poda juntos e pendurá-los perto das videiras, para servir como armadilha e levar os adultos a efetuarem posturas nestes troços, eliminando-os posteriormente através da queima.

## 2.7. Objetivos

No decurso da realização deste estudo ocorreu, naturalmente, uma evolução dos objetivos do mesmo, uma vez que se partiu de um conhecimento muito limitado acerca do problema com que se iria lidar.

Por conseguinte, os objetivos finais delineados foram os seguintes:

1. realização de ensaios de campo para confirmar qual o agente biológico causador do problema presente na região e para a captura do mesmo para ensaios futuros;
2. realização de um ensaio de campo com diferentes tipos de armadilhas e atrativos e um ensaio laboratorial para estudar a preferência cromática de *A. bimaculatus* a curta distância, numa perspetiva de apurar possíveis medidas de monitorização da praga e de proteção da vinha;
3. realização de variadas tarefas e ensaios para aprofundar o conhecimento relativo à espécie, nas matérias da bioecologia da praga, respondendo a questões como quantas gerações anuais existem, quantos instares larvares possui esta espécie, abordando temas relativos aos vários estados do ciclo de vida e à biologia reprodutiva da espécie.

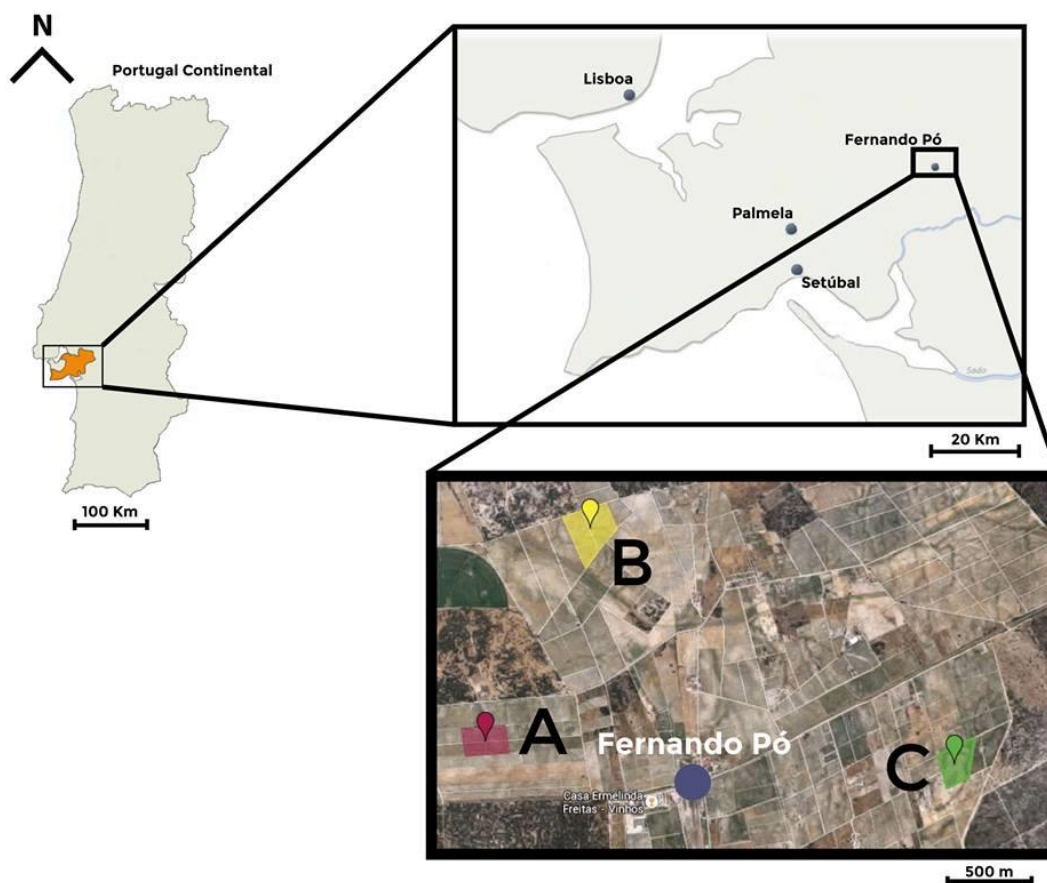
### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Área de estudo**

O presente estudo foi realizado na zona de Fernando Pó, pertencente ao Concelho de Palmela, distrito de Setúbal, em três vinhas sob o acompanhamento técnico da AVIPE: vinha Rui Lobo, no Poceirão, Vinha Fernando Santana, na Fonte da Barreira e Vinha Vasco Machado, em Fernando Pó (Figura 6). Para efeitos de simplificação, as três vinhas serão denominadas, de ora em diante, por A, B e C, respetivamente.

Distribuída por uma área de 1625 km<sup>2</sup> (INE, 2014) a Península de Setúbal é rodeada por três grandes massas de água, o oceano Atlântico e os rios Tejo e Sado. Apresenta dois tipos distintos de paisagens, uma, de relevo acentuado e solos argilo-calcários, protegida pela Serra da Arrábida e outra com relevo suave, terreno arenoso e solos bastante pobres, representando 80% da região (INFOVINI, 2009).

A viticultura da Península de Setúbal está distribuída por 9500 ha, sendo o concelho de Palmela a abranger a maior parte desta área. A casta mais plantada na região é o Castelão (CVRPS, 2013).



**Figura 6** – Localização da área de estudo (Palmela, Setúbal) e dos locais de amostragem das vinhas seleccionadas (adaptado de Infovini, 2009 e Google Maps, 2015).

A área de estudo é caracterizada por ser uma zona sobretudo vitícola, havendo, na vinha B, uma área de sobreiros na envoltória da vinha. As videiras estão plantadas segundo um compasso de 2,60 m por 1,10 m e seguem um sistema de condução *Royat* bilateral ascendente, com “poda a talão”, em que se deixam cerca de dois olhos por talão na altura da poda. A casta presente nas vinhas estudadas é Castelão. Relativamente à área e idade das vinhas, a vinha A apresenta aproximadamente 6 ha e tem cerca de 20 anos. Já a vinha B, com cerca de 45 ha, tem instaladas vinhas de idades diferentes, desde 4 a 13 anos. Por fim, a vinha C é a menor mas também a mais velha, com 3,5 ha com cerca de 25 anos de idade.

Na seleção das unidades de amostragem foi tido em conta o historial das vinhas. Através do acompanhamento técnico, a AVIPE detém o registo de vinhas onde já esteve presente a praga, através, sobretudo, de queixas dos viticultores. Estes relatavam a presença de galerias no interior dos sarmentos na altura da poda das vinhas.

A partir desta informação circunstancial, realizaram-se, em meados de março de 2015, visitas a várias vinhas onde foram feitas avaliações da presença da praga nas mesmas, através da observação de sarmentos da videira, no caso de ainda não se ter realizado poda, e da observação de troços e lenha de poda, no caso de esta já ter ocorrido. Para cada vinha, foram procurados indícios indiretos da presença da praga, ou seja, orifícios circulares na proximidade dos nós ou sarmentos aparentemente ocos.

Foram, então, escolhidas as três vinhas já mencionadas (A, B e C), onde se detetou presença da praga.

### **3.2. Ação na videira e prejuízos**

O estudo da ação de *Amphicerus bimaculatus* na videira possibilitou uma primeira abordagem ao cálculo dos prejuízos desta praga na vinha, em Palmela, Setúbal.

Procedeu-se a uma avaliação da intensidade de ataque da praga nas três vinhas escolhidas (Quadro 1). Esta avaliação foi feita de forma diferente para cada vinha, dependendo se já tinha sido efetuada poda e do local onde a lenha de poda era deixada (nas carreiras ou em pilhas). Foi escolhida uma amostra aleatória de cerca de 200 sarmentos para cada vinha, em troço ou em videira, caso tivessem sido, respetivamente, podadas ou não.

Na vinha Rui Lobo (vinha A), uma vinha que ainda não tinha sido, à data, podada, foram escolhidos 200 sarmentos ainda na videira, ao longo de 3 carreiras (6 linhas).

Na vinha Fernando Santana (vinha B), foram escolhidos 200 sarmentos deixados no chão ao longo de 3 carreiras, tendo-se ainda uma curta relação com a posição das videiras, partindo do pressuposto que os troços foram deixados no local onde foram podados.

Na vinha Vasco Machado (vinha C), os troços da poda foram colocados num monte, perdendo-se assim a relação com a posição na videira. Neste caso, escolheram-se apenas 200 sarmentos ao acaso, ao longo da pilha de poda.



**Quadro 1** – Avaliação da intensidade de ataque para as três vinhas em estudo (Palmela, Setúbal): Rui Lobo, Poceirão (vinha A), Fernando Santana, Fonte da Barreira (vinha B) e Vasco Machado, Fernando Pó (Vinha C) (N/D: não disponível).

Vinha	Nº videiras	Nº varas	Nº varas infestadas	% de ataque
<b>A</b>	21	200	1	0,5%
<b>B</b>	N/D	200	16	8%
<b>C</b>	N/D	200	3	1,5%

As três vinhas apresentam diferenças na estimativa do ataque, com uma percentagem muito superior na vinha B. Esta diferença poderá dever-se ao facto de na vinha B a lenha de poda ter sido deixada ao longo das carreiras, ao invés das outras duas vinhas, em que se recolhe o material e se reúne em montes. As diferenças poderão ainda estar relacionadas com outros aspetos, como a presença de hospedeiros alternativos nas proximidades das vinhas, diferentes práticas culturais ou ainda ao grau de debilitação das videiras.

Posteriormente, foram novamente recolhidos sarmentos pertencentes à lenha de poda efetuada no ano de 2015, nas vinhas Rui Lobo, Fernando Santana e Vasco Machado, em Palmela, Setúbal, distribuídos pelas entrelinhas ou reunidos em montes de lenha de poda. A recolha de sarmentos não foi aleatória, na medida em que apenas foram amostrados sarmentos que apresentassem estragos, como orifícios ou galerias. Uma vez no laboratório, era registado o maior número possível de informação para cada sarmento. É de notar que nem sempre foi possível restituir a história completa de cada sarmento, porque estes nem sempre se encontravam inteiros, uma vez que os trabalhos mecânicos da vinha incluíram alguma fragmentação.

Dos sarmentos recolhidos em campo foram selecionados 106 sarmentos, colhidos de 10/03/2015 a 16/07/2015, que se encontravam completos desde a base, ou seja, desde a coroa do sarmento. Para estes sarmentos, após a devida identificação com número e data de recolha, contabilizou-se o número total de orifícios por sarmento, assim como as ordens dos gomos nas quais ocorriam os orifícios. No caso de haver mais que um orifício no mesmo nó, contabilizou-se apenas um. Efetuou-se, ainda, a medição completa do comprimento do sarmento ou desde a base até aos buracos. Após a descrição externa do sarmento, procedia-se à sua abertura longitudinal para inspeção do seu interior. Aqui, era registada a presença ou ausência de galeria, assim como o número de entrenós que ocupava. Por fim registava-se o número de indivíduos de *A. bimaculatus* assim como outros indivíduos oportunistas das galerias. Todos os sarmentos foram fotografados externamente para o caso de necessidade de consulta posterior.

Foi efetuada uma estatística descritiva exploratória recorrendo ao programa IBM SPSS 22,0 para Windows (Inc. Chicago, EUA) considerando-se como variável dependente o número de orifícios por sarmento. Obteve-se uma média de 1,40 e um erro padrão de 0,090 (Anexo 1).

### **3.3. Amostragem da população de *Amphicerus bimaculatus***

Paralelamente ao ensaio de campo, foi realizada uma captura direta de indivíduos de *Amphicerus bimaculatus* através da recolha de material de poda com indícios de infestação pela observação de orifícios nos sarmentos. Inicialmente, foram capturados apenas adultos, considerados como sendo da geração do ano anterior (2014). Mais tarde, em meados de junho, à medida que o ciclo de vida da espécie foi progredindo, começaram a surgir nos sarmentos estados imaturos como larvas e pupas. Por fim, em finais de julho, voltaram a surgir adultos na lenha de poda, considerando-se estes como a primeira geração anual de *A. bimaculatus* (geração do ano 2015). Os insetos foram capturados maioritariamente na vinha Fernando Santana (vinha B) por ser a vinha com um maior grau de infestação, pelo menos este ano, mas também para garantir uma maior homogeneidade da população por ser da mesma proveniência. Os sarmentos foram mantidos inteiros sempre que possível ou, no caso de serem grandes, fragmentados com uma tesoura de poda para permitir a sua acomodação dentro de sacos individualizados para cada sarmento.

O material recolhido foi transportado para o laboratório de Entomologia do Instituto Superior de Agronomia (ISA) da Universidade de Lisboa (ULisboa).

Tanto no laboratório como no insetário, a população esteve sujeita a condições de temperatura e humidade conhecidas. No laboratório, com temperatura controlada e fotoperíodo do exterior ( $T=25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $60\%\pm 10\%$  h.r., fotoperíodo 14L:10E $\pm 1$ ) e no insetário, com temperatura e fotoperíodos controlados ( $T=24^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $60\%\pm 10\%$  h.r., fotoperíodo 14L:10E).

Os indivíduos foram alimentados com grãos de pólen e algodão embebido em mel diluído na proporção de 1:1. O algodão foi substituído duas vezes por semana e os grãos de pólen foram trocados sempre que começavam a apresentar uma textura mais pastosa, aproximadamente uma vez por semana. Foram escolhidos o mel e o pólen por serem alimentos comuns a muitos insetos fitófagos.

Os indivíduos, obtidos a partir da abertura dos sarmentos trazidos do campo, foram guardados em frascos de plástico cobertos com um pano de algodão para permitir o arejamento e devidamente identificados. No caso de um sarmento estar ocupado por mais que um adulto, estes eram guardados

juntos no mesmo frasco. Dentro do frasco mantiveram-se porções dos sarmentos com galeria, para servir de abrigo, assim como alimento (Figura 7).



**Figura 7** – Frasco de plástico coberto com pano para guardar os indivíduos de *Amphicerus bimaculatus* em laboratório (esquerda). No interior, sarmento com galeria e alimento (direita) (originais da autora).

### **3.4. Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos**

#### **3.4.1. Ensaio com armadilhas em campo**

Com o objetivo de confirmar qual o agente biológico responsável pelos estragos causados nas vinhas acompanhadas pela AVIPE e sabendo à partida que seria um coleóptero da família Bostrichidae, foi delineado um ensaio com vista à captura da espécie, utilizando-se vários tipos de armadilhas, tentando perceber quais as armadilhas que melhor se adaptam ao inseto, com a perspetiva futura de adaptação a armadilhas usadas para estimativa do risco ou como meio de proteção. Os tipos de armadilhas escolhidos permitem testar a preferência do bostríquídeo pelas cores branca e preta, assim como a sua atração pelo etanol e alfa-pineno.

Foram utilizadas armadilhas de material acrílico, de dimensões 150 x 210 mm e espessura 3 mm, com 3 furos (Figura 8), de cores preta, branca e transparente, cobertas com uma cola do tipo Napvis. A área ocupada pela cola era de 150 x 150 mm, para permitir o manuseamento das placas.



**Figura 8** – Placa acrílica utilizada nas armadilhas em campo, 150 x 210 x 3 mm, de cor transparente (original da autora).

Em cada vinha foram instaladas duas armadilhas de intersecção transparentes com e sem atrativo (etanol) (Figura 9) e quatro armadilhas de atração cromotrópicas, duas pretas e duas brancas, de acordo com a direção predominante do vento para cada vinha (Figura 10).



**Figura 9** – Armadilhas de intersecção transparentes de dimensões 150 x 210 x 3 mm com e sem atrativo, instaladas no ensaio de campo. À esquerda, armadilha com etanol e à direita, armadilha sem etanol, cobertas com cola Napvis numa área de 150 x 150 mm (originais da autora).



**Figura 10** – Armadilhas cromotrópicas de dimensões 150 x 210 x 3 mm, instaladas na vinha. À esquerda, armadilha preta e à direita, armadilha branca, cobertas com cola Napvis numa área de 150 x 150 mm (originais da autora).

As três vinhas onde se realizou o estudo diferem entre si na medida em que apresentam uma orientação das linhas diferente relativa à direção predominante do vento.

Tendo por orientação a direção do vento predominante, as armadilhas transparentes foram colocadas de forma que o vento levasse o etanol a cobrir uma maior área da vinha. Na armadilha que continha etanol, fez-se pender um arame do furo de baixo do acrílico, a segurar um copo de plástico coberto com folha de alumínio, cheio com cerca de 70 mL de etanol a 96°.

As armadilhas de cores foram instaladas mais afastadas, em linha, de modo a que o vento contribuísse para a interseção de mais insetos na vinha.

Todas as armadilhas foram instaladas a uma altura do solo de cerca de 0,5 m, utilizando a armação da vinha já disponível.

As armadilhas com etanol foram distanciadas entre si cerca de 100 m, para não haver interferência entre as mesmas e as armadilhas coloridas distanciadas entre si cerca de 30 m.

Tanto a ordem das armadilhas transparentes no campo como a ordem das armadilhas coloridas (pretas e brancas) foram sorteadas antes de serem instaladas. Todas as semanas a ordem das armadilhas foi alterada (as transparentes trocaram entre si e as coloridas circularam entre si).

Para além das armadilhas já referidas, foram adicionadas, duas semanas mais tarde, duas placas acrílicas transparentes junto aos montes de poda localizados nas vinhas A e C (Figura 11), para otimizar a captura de indivíduos. Foram posicionadas contra a direção do vento predominante.



**Figura 11** – Armadilhas de interseção transparentes instaladas junto aos montes de poda. À esquerda, vinha Rui Lobo (vinha A). À direita, vinha Vasco Machado (vinha C). (Palmela, Setúbal) (originais da autora).

A captura de insetos decorreu durante 16 semanas, de 10-04-2015 a 31-07-2015, durante as épocas de primavera e verão. As armadilhas foram inspecionadas a cada semana, para averiguar as capturas ocorridas. Após a recolha dos dados, as armadilhas eram limpas com uma espátula metálica, retirando-se os insetos presentes e preparando a armadilha para a semana seguinte (Anexo 2). Sempre que a cola se apresentava mais suja, a ganhar uma tonalidade diferente da pretendida ou a perder a capacidade de retenção, as armadilhas eram substituídas na íntegra por placas com cola nova.

Para além das placas acrílicas com cola, foi ainda instalada na vinha B uma armadilha de funis *Lindgren* (*Lindgren funnel trap*) (Figura 12), fundamentalmente utilizada na captura de coleópteros (particularmente de escolitídeos). A armadilha consiste numa estrutura formada por 12 funis pretos articulados, com um copo branco de receção na base. É geralmente usada para o controlo de pragas florestais mas também é usada para amostragem de outras espécies de coleópteros. Sabendo que *A. bimaculatus* tem outros hospedeiros vegetais para além da vinha e tendo em conta a proximidade da família Bostrichidae à família Scolytidae, foi utilizado um atrativo da família dos terpenos (alfa-pineno), assim como vagona de larga duração no copo coletor para morte dos exemplares.





**Figura 12** – Armadilha de funis Lindgren instalada na vinha Fernando Santana (vinha B) (Palmela, Setúbal), à cabeceira de uma linha (original da autora).

A armadilha *Lindgren* foi instalada duas semanas mais tarde que as placas acrílicas, no dia 23/04/2015, permanecendo em campo durante 14 semanas. Devido à circulação de maquinaria na vinha, optou-se por colocar a armadilha *Lindgren* à cabeceira de uma linha, pois seria arriscado colocá-la numa entrelinha ou mesmo junto ao caminho principal. Utilizaram-se estacas de ferro e arames para suportar a armadilha e a manter ligeiramente acima do chão. As armadilhas foram inspecionadas e limpas todas as semanas (Anexo 3).

Os dados registados consistiram nas ordens capturadas para cada armadilha, sendo no caso dos coleópteros dada uma atenção especial na procura de indivíduos da família Bostrichidae. No caso de serem capturados indivíduos desta família, os mesmos eram recolhidos e armazenados em tubos de *Eppendorf* (15 mL) levados, posteriormente, para laboratório para se proceder à sua identificação.

A cronologia dos trabalhos de campo e dos trabalhos de laboratório apresentam-se no anexo 4.

#### **3.4.2. Preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* a curta distância**

O objetivo deste ensaio foi estudar a preferência de *A. bimaculatus* por diversas cores a curta-distância, na perspetiva de futura aplicação em medidas de proteção da vinha e de monitorização da praga.

Foi utilizada uma caixa acrílica com 30 cm de altura, composta por 8 compartimentos paralelepípedicos de 15 cm de comprimento por 11,5 cm de largura, equidistantes de uma área comum octogonal com 30 cm de diâmetro, com tampa transparente amovível. O dispositivo foi construído para o trabalho de Campos (2008). Com vista a uniformizar a luminosidade incidente em cada uma das secções, a arena foi iluminada verticalmente por uma lâmpada multivapores de iodetos metálicos, de 70W (Powerball HCl-T). Esta lâmpada possui um filtro para radiação ultravioleta e um índice de restituição cromática (IRC), em relação ao sol, superior a 95%. É uma luz branca quente (tonalidade 3000°K), com reduzida dispersão de cores. As cores testadas foram o preto, o castanho, o verde e o vermelho, por esta ordem de posição. Cada compartimento foi forrado com papel autocolante das várias cores, sendo que as salas de posição oposta foram forradas da mesma cor (Figura 13). A área octogonal foi forrada de branco. As cores do ensaio foram escolhidas de acordo com diferentes motivos. O preto e castanho por serem cores mais semelhantes ao hospedeiro quando atempado, e por serem referidas por Fletchmann *et al.* (1997) como as cores mais atrativas para bostriquídeos, em contexto de campo, em armadilhas. O verde foi escolhido por ser semelhante ao hospedeiro em fase herbácea. Por fim, o vermelho foi escolhido por ser uma cor mostrada pelo hospedeiro na fase anterior ao repouso vegetativo, em senescência foliar.



**Figura 13** – Caixa acrílica compartimentada (dimensões das secções: 30 x 15 x 11,5 cm e diâmetro da arena central: 30 cm) forrada com a sequência de cores escolhida (preto, castanho, verde e vermelho) para o ensaio da preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* a curta distância (original da autora).

Foi realizado um ensaio prévio envolvendo 8 indivíduos, com duração de 30 minutos para cada indivíduo. O tempo passado desde o início do teste até à primeira escolha de cor foi em média 8



minutos e 49 segundos pelo que se decidiu reduzir a duração do ensaio principal para 20 minutos por indivíduo.

Foram submetidos ao ensaio 76 indivíduos, 39 machos e 37 fêmeas, provenientes das recolhas de sarmentos ocupados, em campo, nas vinhas Rui Lobo, Fernando Santana e Vasco Machado (Palmela, Setúbal). Cada exemplar foi sujeito à experiência apenas uma vez, uma vez que experiências repetidas para o mesmo sujeito não podem ser consideradas independentes (Martin e Bateson, 1993). Cada indivíduo foi colocado no centro da caixa, aleatoriamente virado para qualquer um dos lados, cronometrando-se 20 minutos a partir daí, tempo durante o qual se registavam todos os comportamentos observados, nomeadamente voos efetuados, seleção de cores por parte do sujeito e a duração de cada escolha. Apenas se considerou escolha por parte do sujeito quando o seu corpo entrava na totalidade dentro de uma das secções.

Devido à fraca agilidade e coordenação dos adultos de *A. bimaculatus* fora das galerias, estes tendem a virar-se de ventre para cima, tendo dificuldade em regressar à posição normal. Sempre que isto acontecia, durante o ensaio, intervinha-se de modo colocá-los na posição normal. Os indivíduos eram retirados das galerias momentos antes de serem sujeitos à experiência e manuseados com recurso a um pincel para o menor distúrbio possível.

A preferência da cor de acordo com o sexo foi submetida a um teste de  $\chi^2$ , através do programa IBM SPSS statistics 22,0 para Windows (Inc. Chicago, EUA). O nível de significância considerado foi  $\alpha=0,05$  (Anexo 5).

### **3.5. Estudo dos estados de desenvolvimento de *Amphicerus bimaculatus***

#### **3.5.1. Determinação da duração do tempo de vida do adulto em cativeiro**

Na perspetiva da realização de futuros ensaios em contexto de laboratório com *Amphicerus bimaculatus* e com o objetivo de determinar a duração do tempo de vida do adulto em condições laboratoriais, foram utilizados 118 indivíduos, 67 machos e 51 fêmeas, em cativeiro. Os indivíduos, provenientes das capturas em campo nas vinhas Rui Lobo, Fernando Santana e Vasco Machado (Palmela, Setúbal), de 10/03/2015 a 10/06/2015, foram acompanhados em laboratório, e, aquando da sua morte, preservados a seco em *Eppendorfs* de plástico (15 mL), sendo-lhes atribuída uma referência interna do registo do laboratório. O facto de os adultos se refugiarem dentro dos sarmentos dificultou a procura por indivíduos mortos. Estes eram procurados dentro dos frascos sempre que era dada a

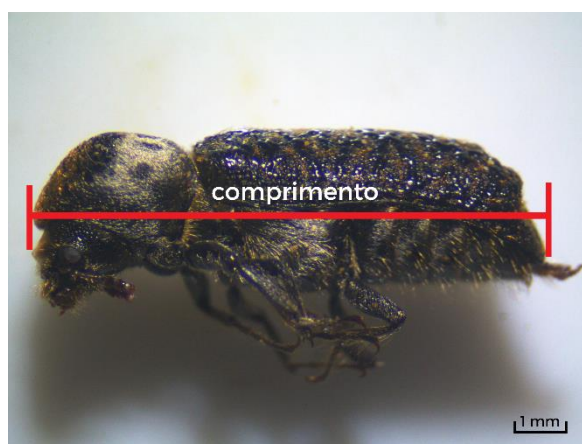
alimentação, tentando-se, com um mínimo de perturbação possível, revistar também o interior dos sarmentos. A data da morte registada para cada indivíduo corresponde então à data na qual foi constatada a sua morte.

Através dos registos da entrada de cada indivíduo para ambiente laboratorial foi possível, conhecendo a data aproximada da sua morte, obter a duração do tempo de vida do adulto em laboratório para cada indivíduo.

A duração do tempo de vida em condições controladas de laboratório, em função do sexo dos adultos foi submetida a análise de variância (ANOVA), através do programa IBM SPSS statistics 22,0 para Windows (Inc. Chicago, EUA). Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão e o nível de significância considerado foi  $\alpha=0,05$  (Anexo 6).

### 3.5.2. Dimensões dos adultos

As medições dos comprimentos foram efetuadas para adultos da geração do ano anterior (2014) e para os adultos da geração do ano em curso (2015), sendo escolhidos 15 indivíduos de cada, incluindo machos e fêmeas. O facto de os insetos da família Bostrichidae possuírem a cabeça com uma posição ventral relativamente ao tórax, faz com que a cabeça seja apenas observada parcialmente, numa vista dorsal, na parte mais frontal ou então que não seja observável de todo. Como a cabeça pode estar mais ou menos retraída, optou-se por fazer a medição do comprimento dos adultos desde o limite mais anterior do pronoto até ao limite posterior do abdómen, excluindo a cabeça e antenas (Figura 14).



**Figura 14** – Medição do comprimento de adulto de *Amphicerus bimaculatus* desde o limite anterior do pronoto até ao limite posterior do abdómen (original da autora).

Foram, ainda, medidos os novos indivíduos emergidos dos troços de sarmento isolados após a morte dos indivíduos adultos da geração do ano anterior. Estes novos adultos estiveram sujeitos a condições de restrição de alimento, uma vez que os troços onde se encontravam eram pequenos e continham muitas vezes as galerias provocadas pela geração anterior. Foram efetuadas medições para a totalidade dos indivíduos deste grupo, sendo estes apenas 7 exemplares.

Para a geração do ano anterior, como já não restavam, à data, indivíduos vivos, foram utilizados 15 exemplares mortos, sem discriminar o sexo, escolhendo os indivíduos com registos mais recentes de morte. Para a sua medição, os indivíduos foram observados com recurso a um microscópio estereoscópico (10 – 70 X de ampliação) (Meiji Techno, EMZ13TR) e fotografados, utilizando para o efeito uma máquina fotográfica ligada à lupa e um computador com o *software* ProgRes CT5 USB Color tendo por referência a escala milimétrica. As fotografias resultantes foram analisadas no computador para determinar com a máxima exatidão os comprimentos dos indivíduos.

Para a geração do ano foram escolhidos indivíduos vivos com origem em sarmentos onde não tenha havido restrição de alimento, excluindo-se por isso adultos desenvolvidos a partir de troços mais pequenos de videira. Uma vez que os adultos de *A. bimaculatus* não são muito ativos e permanecem muitas vezes imóveis, optou-se por fotografá-los vivos. Repetiu-se, então, o procedimento utilizado para a primeira geração para a obtenção das fotografias.

Por fim, repetiu-se o procedimento para os indivíduos da geração do ano que estiveram sujeitos a restrição de alimento.

As dimensões dos adultos em função do sexo e em função da geração a que pertenciam (geração do ano anterior, geração do ano sem restrição de alimento e geração do ano com restrição de alimento) foram submetidas a análise de variância (ANOVA), procedendo-se ao teste de Tukey de comparação de médias, através do programa IBM SPSS statistics 22,0 para Windows (Inc. Chicago, EUA). Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão e o nível de significância considerado foi  $\alpha=0,05$ .

### **3.5.3. Biologia de *Amphicerus bimaculatus* no contexto da presença de hospedeiro**

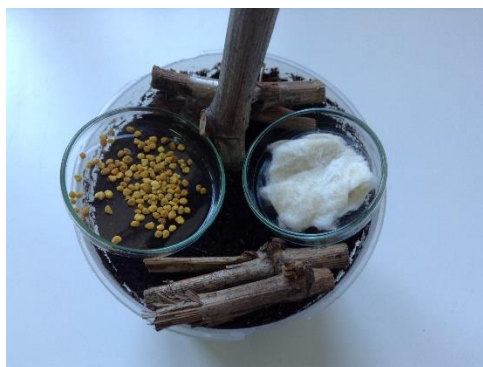
Com o objetivo de estudar a biologia da espécie e acompanhar o seu ciclo de vida no contexto da presença de hospedeiro, foram escolhidos 15 indivíduos, 4 machos e 11 fêmeas, que foram colocados na presença de videiras vivas envasadas. É desconhecido o estado biológico dos indivíduos utilizados

na medida em que não se sabe se as fêmeas utilizadas eram virgens ou fecundadas, e neste caso, se já tinham efetuado posturas ou não. Utilizou-se uma caixa acrílica transparente de dimensões 40 x 21 x 67 cm em que uma das paredes foi tapada com um tecido para permitir a passagem de ar (Figura 15). A caixa foi colocada na proximidade de uma janela do laboratório para receber luz solar.



**Figura 15** – Caixa acrílica de dimensões 40 x 21 x 67 cm utilizada no ensaio com duas videiras da casta Aragonez no interior com o objetivo de estudar a biologia de *Amphicerus bimaculatus* (N=15, 4 machos e 11 fêmeas) (original da autora).

No interior da caixa colocaram-se dois vasos com videiras novas de pequeno porte da casta Aragonez, plantadas em substrato composto por terra e turfa misturadas. Foi utilizado Aragonez para o ensaio porque era a única variedade disponível na altura. Os gomos da base da estaca foram cortados para estimular o abrolhamento da parte superior da planta. Na seleção das videiras teve-se o cuidado de escolher plantas viçosas e de aspeto saudável. As videiras foram regadas cerca de três vezes por semana. Durante o ensaio, as videiras foram mantidas em laboratório com temperatura controlada e fotoperíodo do exterior ( $T=25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $60\%\pm 10\%$  h.r., fotoperíodo 14L:10E $\pm 1$ ). Na base das plantas, em cima da terra foram colocados os troços de sarmentos que continham os indivíduos, da casta Castelhão (Figura 16). O alimento disponibilizado foi novamente grãos de pólen e algodão embebido em mel diluído na proporção de 1:1.



**Figura 16** – Disposição do alimento e dos troços de sarmento da casta Castelão na base do vaso utilizado no ensaio em videira da casta Aragonez (original da autora).

O ensaio decorreu de 08/06/2015 a 28/07/2015, dia em que o último adulto morreu. Foram feitas observações três vezes ao dia, aproximadamente ao início da manhã, a meio do dia e ao final do dia, registando-se a atividade de *A. bimaculatus* no contexto da presença do hospedeiro. Após a morte do último indivíduo, manteve-se a caixa com as videiras para posterior observação para permitir o desenvolvimento de possível descendência.

Devido ao tamanho reduzido dos ovos, estes não são facilmente observáveis a olho nu. As videiras foram por isso observadas a microscópio estereoscópio (10 – 70X de ampliação) (Meiji Techno, EMZ13TR) para procura de posturas.

#### **3.5.4. Larvas, pupas e determinação do número de instares larvares**

Os indivíduos de *A. bimaculatus* presentes nas galerias dos sarmentos recolhidos das vinhas estudadas (Palmela, Setúbal) começaram por ser apenas adultos no início, mas mais tarde, a partir de meados de junho, começaram também a surgir larvas. A certa altura a sua proporção na amostra trazida do campo acabou por superar a dos adultos. Para se ter a garantia que as larvas encontradas nos sarmentos recolhidos no campo pertenciam de facto à espécie *A. bimaculatus*, estes sarmentos foram isolados em caixas até se verificar a emergência dos adultos. As larvas estudadas apresentam, tal como descrito para a família Bostrichidae, um corpo ligeiramente esclerotizado, forma escarabeiforme e cor branco-amarelada (Figura 17).



**Figura 17** – Larva escarabeiforme de *Amphicerus bimaculatus* presente nos sarmentos recolhidos do campo (original da autora).

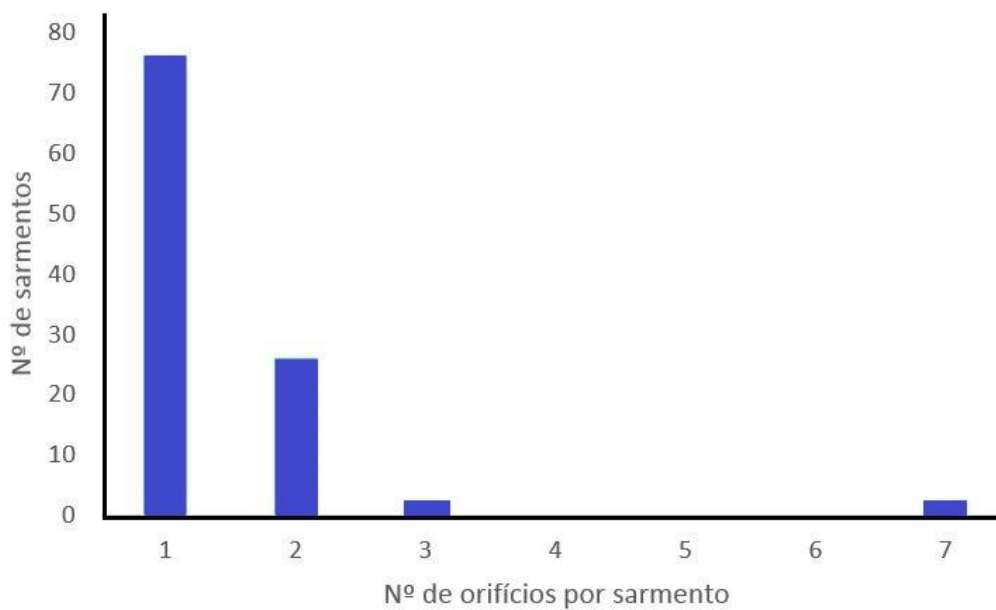
Com o objetivo de determinar o número de instares larvares, procuraram-se estruturas como armaduras bucais, cápsulas cefálicas ou mudas. Foram escolhidos sarmentos sem perfurações, para garantir que todo o serrim e vestígios ainda se encontravam no seu interior. Foram utilizados sarmentos com pupas ou com adultos isolados (não mais que um por galeria) para garantir que o ciclo larvar estava completo. Para cada sarmento analisado, todo o conteúdo das galerias foi despejado para uma placa de Petri, onde de seguida, com recurso a microscópio estereoscópico (10 – 70 X de ampliação) (Meiji Techno, EMZ13TR) se procuraram as estruturas acima referidas.

Este processo, para além de moroso, verificou-se bastante complicado pois a imensa quantidade de serrim mascarava as estruturas ínfimas que lá se poderiam encontrar.

## 4. RESULTADOS

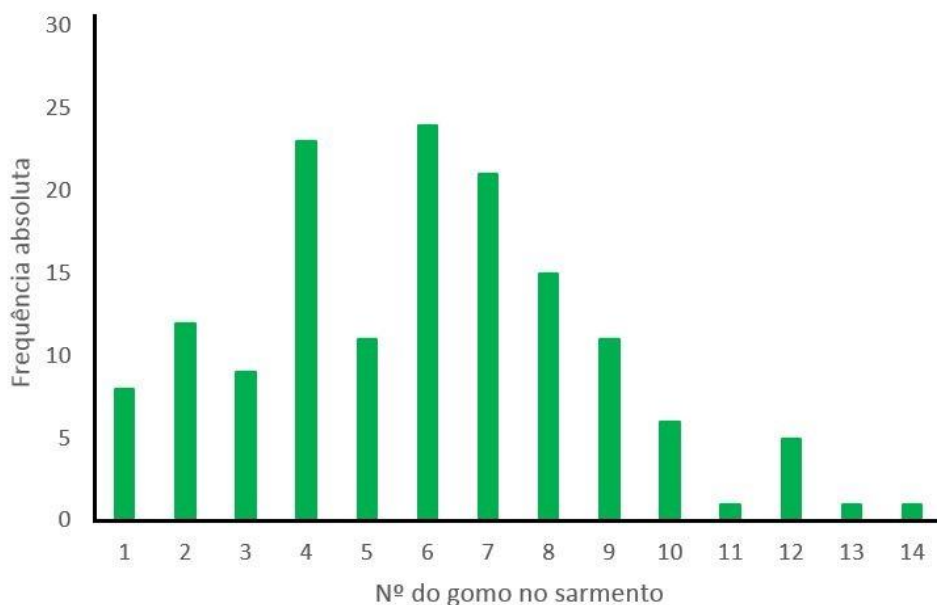
### 4.1. Ação na videira e prejuízos

O número de orifícios por sarmento variou entre 1 e 7, sendo que a grande maioria dos sarmentos amostrados apresenta 1 ou 2 orifício (Figura 18).



**Figura 18** – Número de sarmentos totais contabilizados em função do número de orifícios por sarmento.

Procedeu-se, ainda, ao cálculo da distribuição de frequências dos orifícios ao longo dos sarmentos (Figura 19).



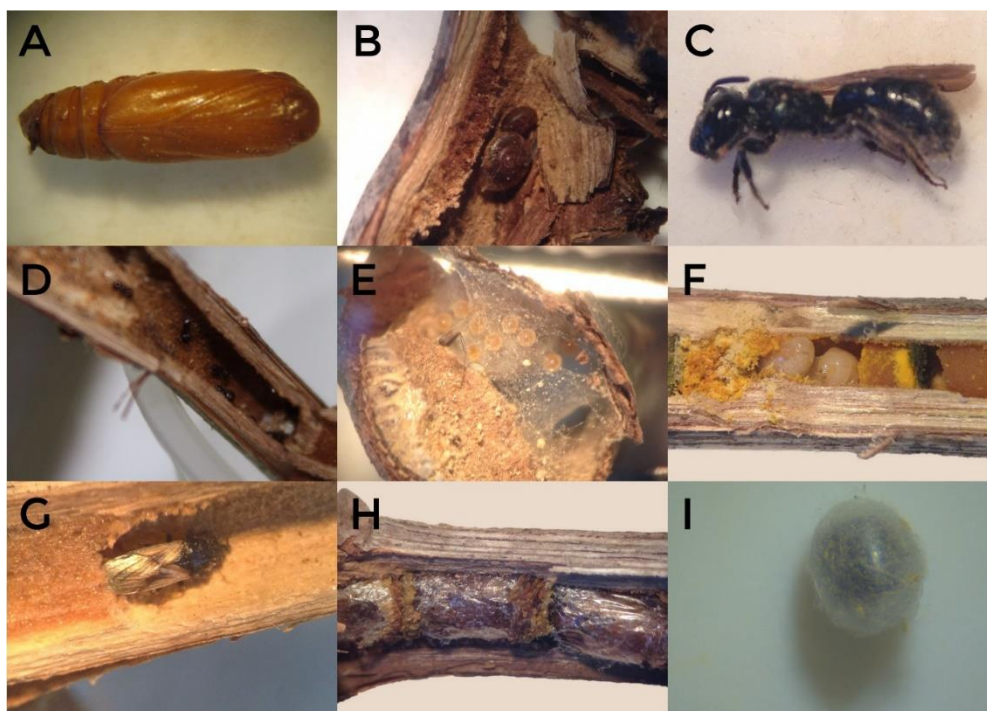
**Figura 19** – Distribuição de frequências dos orifícios ao longo do sarmento (1 = gomo da coroa).

Mais de 50% dos sarmentos apresentaram orifícios próximos dos gomos de ordem 4 a 7.

Nas vinhas estudadas, o tipo de poda utilizado é *Royat* bilateral ascendente, sendo deixados cerca de dois gomos à carga, por talão. A frequência de ataque das três primeiras ordens (ordem da coroa mais os dois primeiros nós) corresponde aproximadamente a 20%, relativamente à totalidade dos sarmentos amostrados que já estavam atacados, ou seja, com orifícios. É possível fazer uma estimativa do prejuízo para as vinhas estudadas, usando este valor e a estimativa de ataque preliminar calculado para as vinhas (Quadro 1). Obtém-se assim uma estimativa do prejuízo na ordem dos 0,1% para a vinha A, 1,6%, para a vinha B e 0,3% para a vinha C, correspondente aos sarmentos com orifícios de entrada nos primeiros 3 nós.

Nos sarmentos amostrados, algumas espécies, nomeadamente de insetos, aracnídeos e moluscos apropriaram-se das galerias criadas por *A. bimaculatus* para abrigo e para reprodução, efetuando posturas no seu interior. Os estados imaturos podem assim desenvolver-se abrigados de adversidades climáticas e de predadores. Foram encontrados caracóis, aranhas e insetos nas várias fases de desenvolvimento. Alguns tomam abrigo nas galerias em adultos, mas a maioria usa as cavidades como local para assegurar a descendência, tendo sido encontrados ovos, pupas e larvas. Alguns dos espécimes encontrados foram formigas, pupas de lepidóptero, abelhas solitárias, hemípteros, entre outros (Figura 20).





**Figura 20** – Exemplos vários de indivíduos oportunistas das galerias produzidas por *Amphicerus bimaculatus* (A – pupa de lepidóptero; B – caracóis; C – abelha solitária; D – formigas; E – ovos de aranhas; F – larva de abelha solitária; G – hemíptero; H – células de abelhas solitárias e I – ovo) (originais da autora).

Foi, ainda, encontrado num dos sarmentos recolhidos na vinha A, um indivíduo da espécie *Denops albofasciatus*, referenciada como predadora de bostriquídeos (Figura 21). O sarmento apresentava os sintomas de ocupação por *A. bimaculatus*, mas não foi encontrado nenhum indivíduo, sugerindo a atividade predatória do espécime de *D. albofasciatus*.

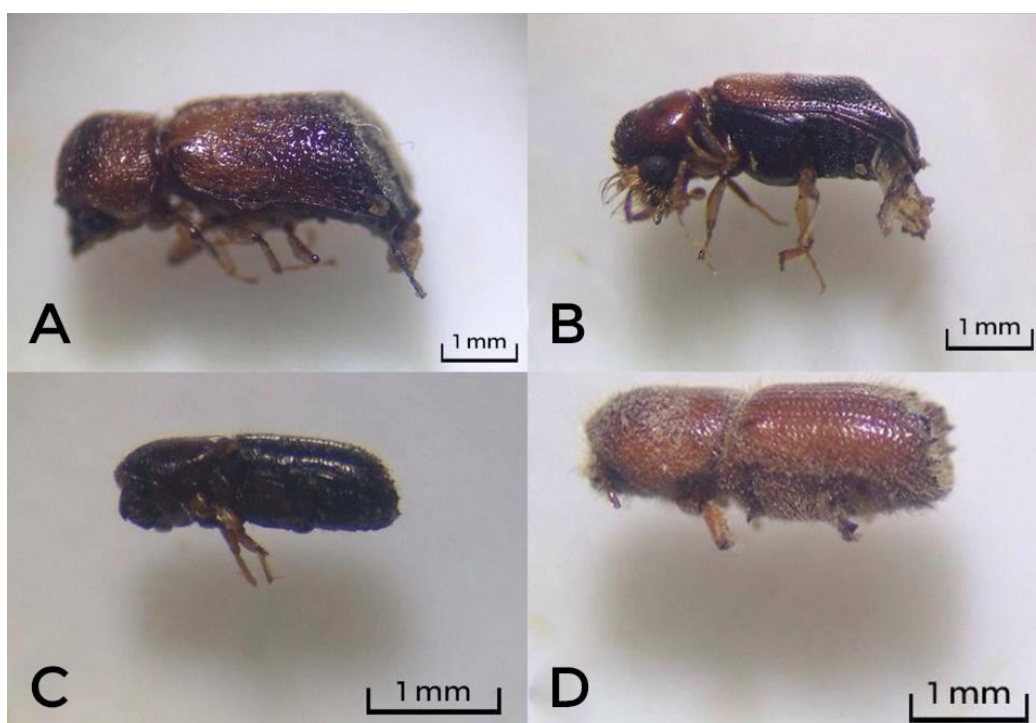


**Figura 21** – *Denops albofasciatus* (Charpentier, 1825) (Coleoptera, Cleridae) encontrado em sarmento com galeria de *Amphicerus bimaculatus* proveniente da vinha Rui Lobo, Poceirão (vinha A) (original da autora).

## 4.2. Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos

### 4.2.1. Ensaio com armadilhas em campo

No decorrer do período de amostragem, não foram capturados indivíduos da espécie *A. bimaculatus* em nenhuma das armadilhas testadas. Apesar disso, ocorreram algumas capturas pontuais de indivíduos da família Bostrichidae e Scolytidae. Foram identificadas duas morfoespécies de bostriquídeos e duas morfoespécies de escolitídeos (Figura 22).



**Figura 22** – Exemplos das morfoespécies de Bostrichidae (A e B) e Scolytidae (C e D) capturados em armadilhas no campo, nas vinhas estudadas (Palmela, Setúbal) (originais da autora).

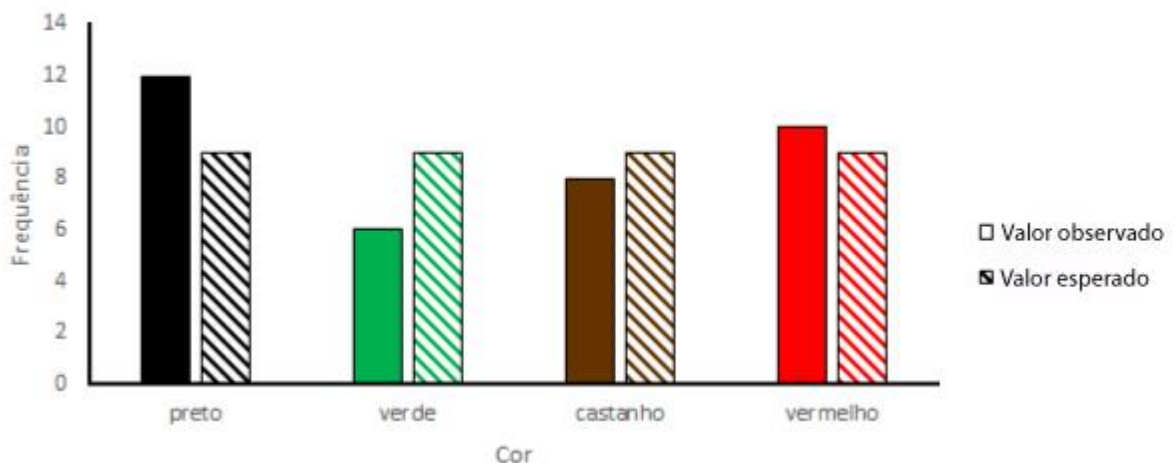
Foram capturados 5 exemplares diferentes da morfoespécie A e 3 exemplares diferentes da morfoespécie B, da família Bostrichidae, todos eles em armadilhas transparentes iscadas com etanol. Já para os Scolytidae, foram capturados 2 exemplares da morfoespécie C, numa armadilha transparente sem etanol e 1 exemplar da morfoespécie D, na armadilha *Lindgren*.

Foram ainda observados indivíduos adultos de *A. bimaculatus*, em voo no dia 01/04/2015, numa das idas ao campo antes da instalação das armadilhas. À data, foi possível recolher 1 indivíduo para confirmação da espécie em laboratório.

#### 4.2.2. Preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* a curta distância

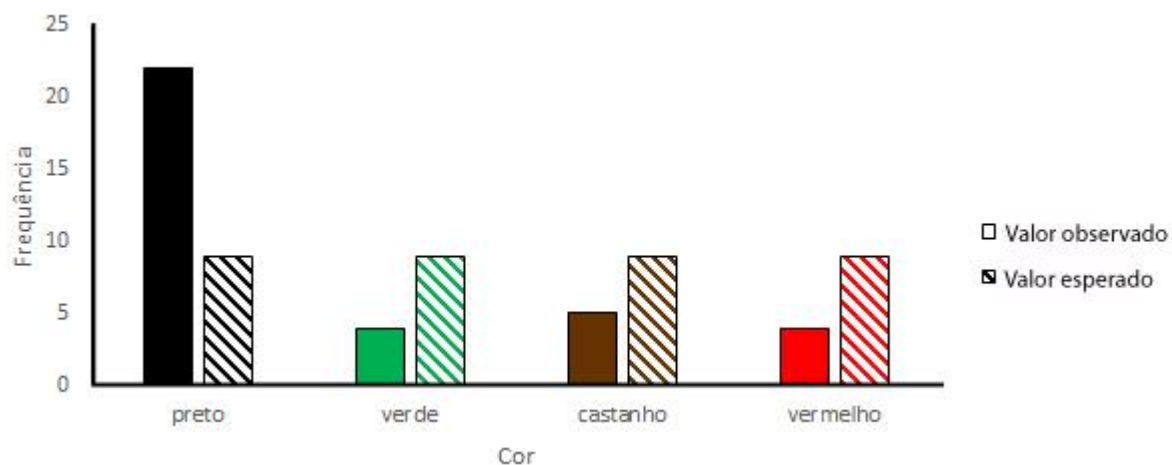
Dos 76 indivíduos submetidos ao ensaio, 39 eram machos e 37 eram fêmeas. Destes 76 indivíduos participantes no ensaio, 5 ofereceram respostas nulas (não efetuaram nenhuma escolha). O número de indivíduos considerados para a análise estatística foram, por isso, 71 (35 machos e 36 fêmeas). Destes 73, 59 indivíduos efetuaram uma 2ª escolha, ou seja, 80%, sendo 27 machos e 32 fêmeas. Dos 59 indivíduos que efetuaram uma 2ª escolha, 16 indivíduos efetuaram a 2ª escolha igual à primeira, ou seja, 27%.

Os resultados obtidos para as fêmeas apresentam-se na Figura 23. Não foram verificadas diferenças significativas para as cores testadas ( $N = 36$ ;  $\chi^2_3 = 2,222$ ;  $p = 0,528$ ), sendo o preto a cor mais escolhida.



**Figura 23** – Ensaio para a preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* cujas cores testadas foram preto, verde, castanho e vermelho: resultados do teste de  $\chi^2$  para as fêmeas ( $N = 36$ ).

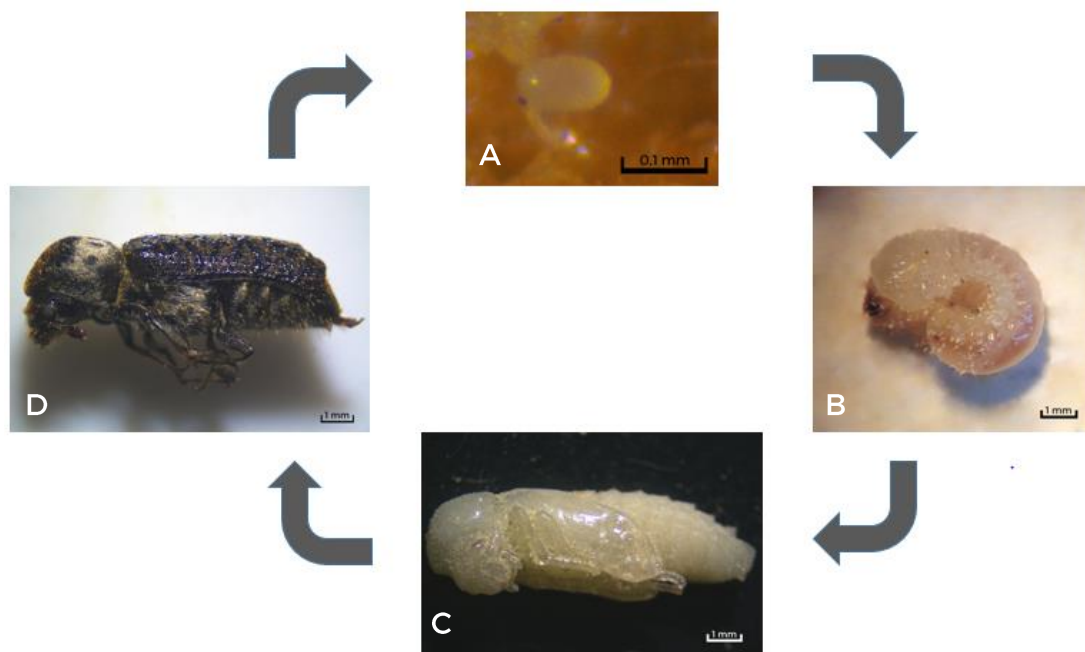
Os resultados obtidos para os machos apresentam-se na Figura 24. Verificaram-se diferenças significativas nas cores testadas ( $N = 35$ ;  $\chi^2_3 = 26,829$ ;  $p < 0,001$ ), sendo o preto a cor significativamente mais escolhida pelos insetos machos.



**Figura 24** – Ensaio para a preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* cujas cores testadas foram preto, verde, castanho e vermelho: resultados do teste de  $\chi^2$  para os machos (N = 35).

#### 4.3. Estudo dos estados de desenvolvimento de *Amphicerus bimaculatus*

Tal como referido anteriormente, o ciclo de vida de *A. bimaculatus* inclui os estados de ovo, larva, pupa e adulto (Figura 25).



**Figura 25** – Ciclo de vida de *Amphicerus bimaculatus* (A – ovo; B – larva; C – pupa e D – adulto) (originais da autora).

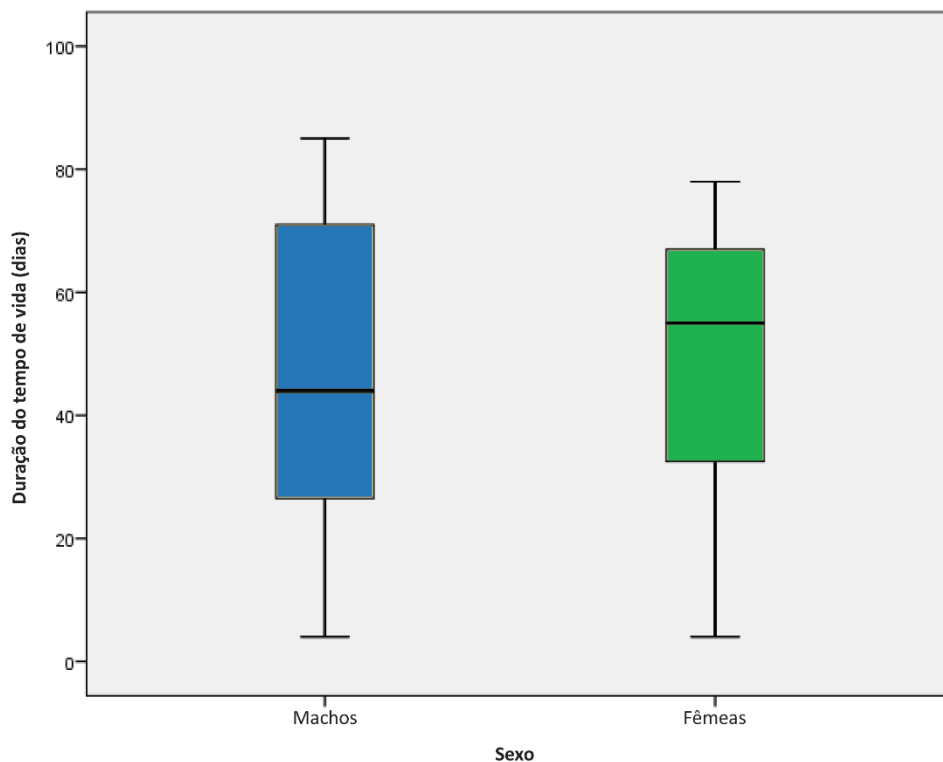
O presente estudo permitiu documentar os estados de ovo, larva e pupa. Até ao momento, não existiam registos fotográficos do ovo de *A. bimaculatus* e das larvas e pupas existia apenas um registo (Ciampolini *et al.*, 1989). A informação foi obtida através das recolhas no campo e do seu acompanhamento em laboratório. A partir desta informação, foi possível esboçar a ocorrência sazonal de uma parte do ciclo de vida anual de *A. bimaculatus* (Quadro 2). Os ovos observados foram obtidos de fêmeas mantidas em laboratório, as larvas, as pupas e os adultos observaram-se em ambos os contextos.

**Quadro 2** – Ocorrência sazonal de *Amphicerus bimaculatus* (a verde ocorrência em campo, a azul ocorrência em laboratório). Entre outubro e fevereiro não há dados para suportar a ocorrência sazonal. **A** – início dos trabalhos de campo e laboratório. **B** – fim dos trabalhos de campo. **C** – fim dos trabalhos de laboratório.

	(A)				(B)		(C)		
Adulto									
Ovo									
Larva									
Pupa									
	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro ... Fevereiro	

#### 4.3.1. Determinação da duração do tempo de vida do adulto em cativeiro

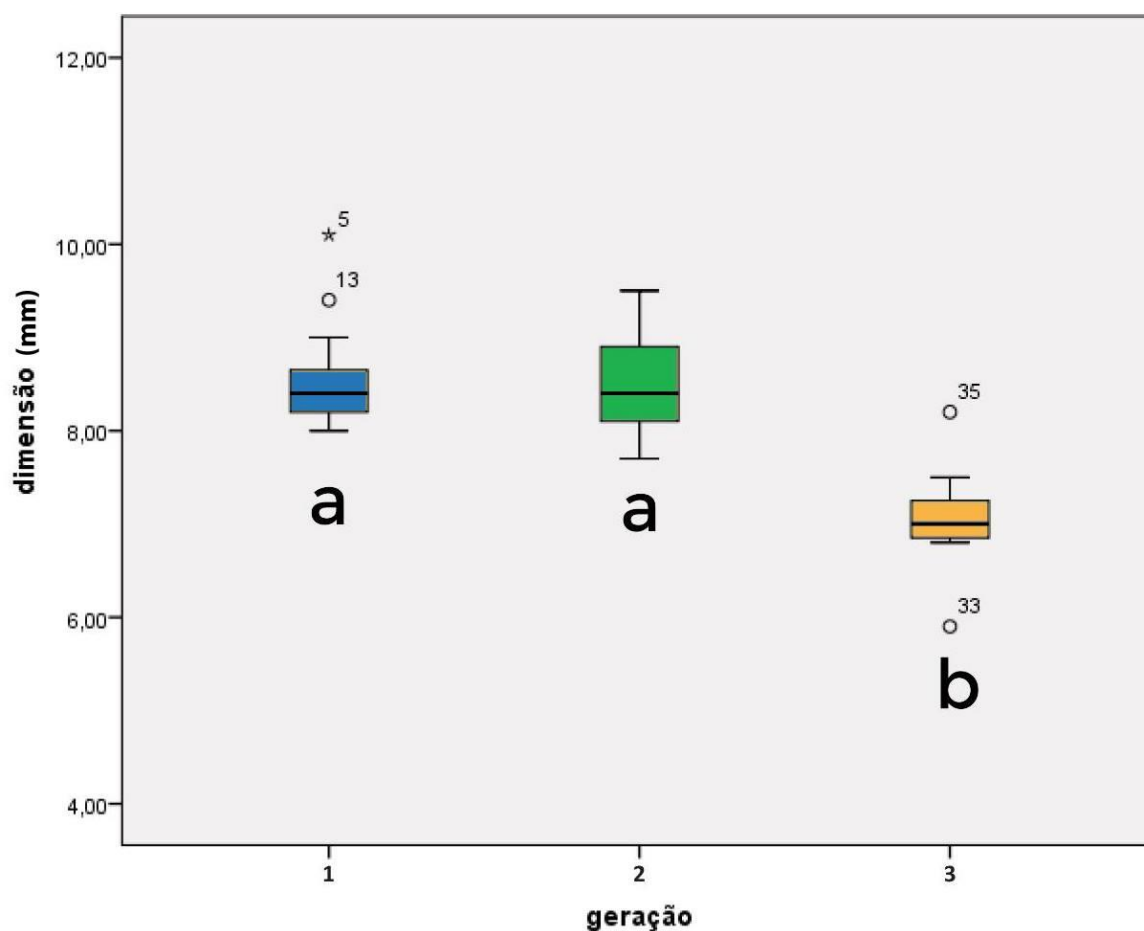
Os valores médios da duração do tempo de vida de *A. bimaculatus* não obtiveram diferenças significativas de acordo com os sexos ( $Z_1=0.036$ ;  $p=0.849$ ) (Figura 26).



**Figura 26** – Diagrama de extremos e quartis para a duração do tempo de vida (dias) em função do sexo.

#### 4.3.2. Dimensões dos adultos

Os valores médios das dimensões dos adultos não obtiveram diferenças significativas de acordo com os sexos ( $Z_1=0,117$ ,  $p=0,734$ ). Em relação à análise da dimensão dos adultos de acordo com a geração (geração do ano anterior, geração do ano sem restrição de alimento e geração do ano com restrição de alimento), a dimensão dos adultos da geração do ano com restrição de alimento foi significativamente inferior às outras duas ( $Z_2=17,391$ ,  $p<0,001$ ) e entre estas não houve diferenças significativas (Figura 27) (Anexo 7).



**Figura 27** – Diagrama de extremos e quartis com a análise das dimensões de acordo com a geração (geração do ano anterior, geração do ano sem restrição de alimento e geração do ano com restrição de alimento). Os parâmetros seguidos pelas mesmas letras não apresentaram diferenças significativas.

#### 4.3.3. Biologia de *Amphicerus bimaculatus* no contexto da presença de hospedeiro

Vários comportamentos foram observados, desde alimentação, exploração do habitat, prospeção do substrato para postura e sondagem do mesmo com o ovíscapo.

Foi registrada uma atividade das fêmeas superior à dos machos ao longo do dia. Os machos permaneceram maioritariamente abrigados nas galerias dos sarmentos, enquanto as fêmeas, mais ativas, procuraram explorar o ambiente em seu redor, trepando os sarmentos das videiras. As fêmeas também foram observadas em alimentação mais vezes que os machos.



Para além das observações dos comportamentos, foi possível registar indícios indiretos da atividade dos adultos, nomeadamente da alimentação, ao verificar que os algodões se encontravam roídos e também vestígios de serrim, indicando a sua atividade na madeira.

Registou-se, ainda, um início de perfuração na madeira dos sarmentos das videiras plantadas (Figura 28).



**Figura 28** – Início de perfuração de *Amphicerus bimaculatus* em videira utilizada no ensaio em planta hospedeira (original da autora).

Apesar de não terem sido observados comportamentos copulatórios durante o período do ensaio, foi possível observar fêmeas a sondar o substrato e o hospedeiro vegetal com o ovíscapo, assim como a realizar posturas. Este comportamento foi registado sob o formato fotográfico e de vídeo (Figuras 29 e 30).



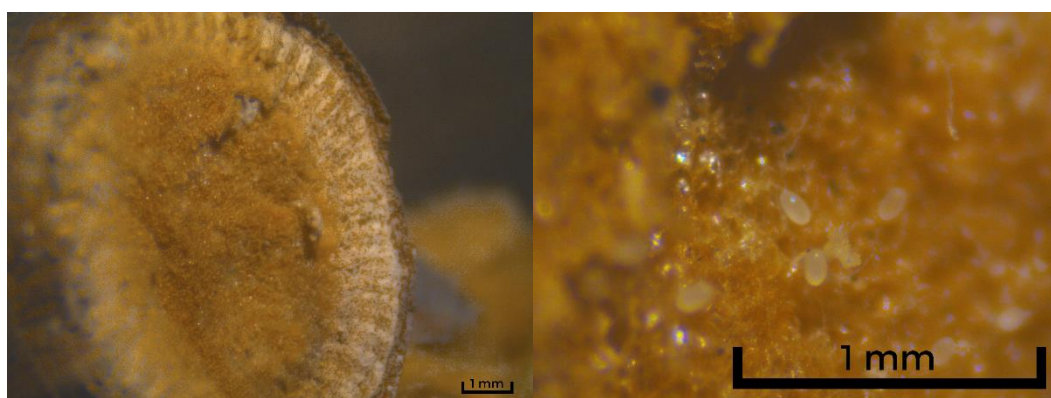
**Figura 29** – Fêmea de *Amphicerus bimaculatus*, assinalada com círculo branco, a sondar o substrato de uma videira com ovíscapo de fora no ensaio em videira da casta Aragonez (excertos retirados de vídeo da autora).





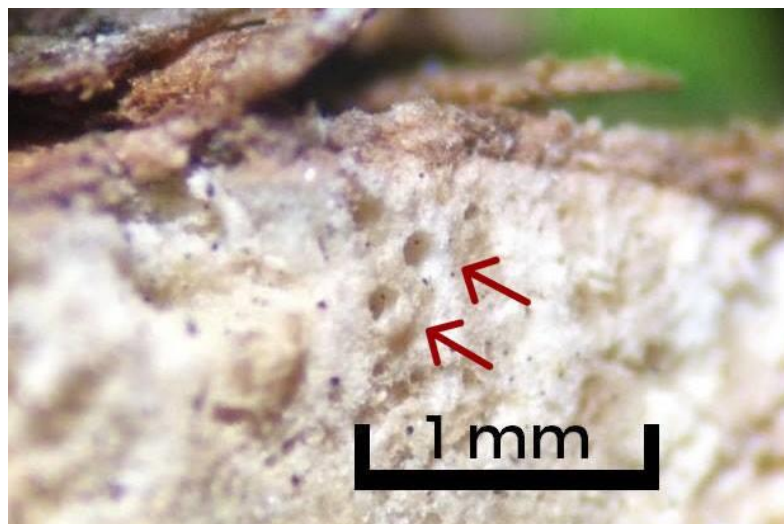
**Figura 30** – Pormenor do ovíscapo da fêmea de *Amphicerus bimaculatus* em atitude de postura (excertos retirados de vídeo da autora).

Os locais selecionados pelas fêmeas para a realização das posturas foram as zonas junto aos nós dos sarmentos e as zonas de corte da videira. Não foi observado nenhum padrão de postura, sendo esta, por isso, aleatória (Figura 31).



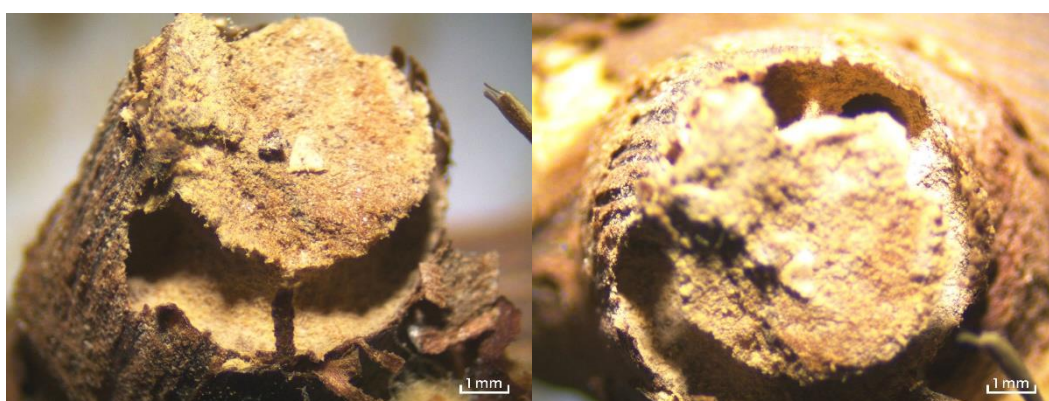
**Figura 31** – À esquerda, corte do sarmento onde foram observadas posturas de *Amphicerus bimaculatus*, no ensaio em planta hospedeira. À direita, alguns ovos depositados no substrato (originais da autora).

Após a realização da postura e respetiva observação ao microscópio, foram contabilizados cerca de 26 ovos no corte do sarmento mencionado. Seguiram-se observações diárias ao local de postura. Quatro dias depois, a maioria dos ovos tinha eclodido e 7 dias depois todos os ovos tinham desaparecido. Após a eclosão, não foi possível observar vestígios dos ovos, possivelmente devido à reduzida dimensão dos mesmos e ao substrato irregular e poroso. Em observações posteriores foi possível localizar perfurações nítidas na periferia do corte (Figura 32), podendo estes corresponder à entrada das larvas no interior do sarmento.



**Figura 32** – Orifícios de entrada das larvas de *Amphicerus bimaculatus* no sarmento, na periferia do corte (indicados pelas setas a vermelho) (original da autora).

A 22/09/2015 procedeu-se à abertura dos sarmentos das videiras do ensaio, tendo-se encontrado inícios de perfuração e galerias pequenas (Figura 33).

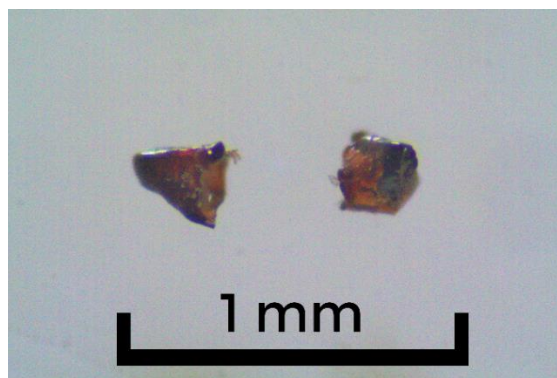


**Figura 33** – Galerias larvares provocadas pelas larvas eclodidas das posturas feitas pelas fêmeas de *Amphicerus bimaculatus*, em videira no ensaio em planta hospedeira (originais da autora).

Contudo, apesar das pequenas galerias de *A. bimaculatus*, não foi encontrado qualquer indivíduo, vivo ou morto, no seu interior.

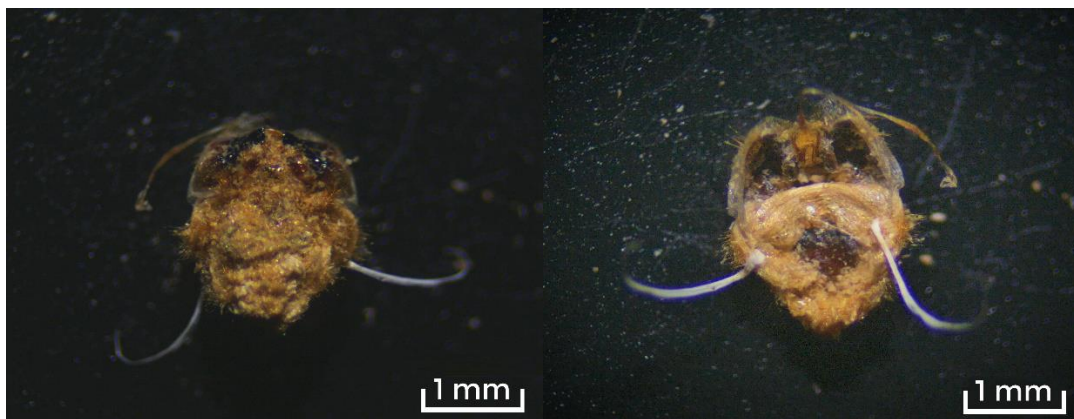
#### 4.3.4. Larvas, pupas e determinação do número de instares larvares

No serrim presente no interior das galerias foi possível encontrar várias estruturas. As primeiras estruturas a serem encontradas e que se revelaram ser as mais comuns apresentam-se na Figura 34. Estas estruturas são altamente esclerotizadas, de cor castanha escura e de formato piramidal. São peças da armadura bucal das larvas, visto ser essa a única estrutura esclerotizada no seu corpo. Estas estruturas encontram-se aos pares e aumentam de tamanho de instar para instar. Segundo Böving e Craighead (1931) e Booth *et al.* (1990), estas estruturas correspondem às mandíbulas dos instares larvares, devido ao seu formato. A larva deixará para trás as mandíbulas, que, por serem muito rígidas, não são ingeridas. A restante muda dos instares larvares, por ser uma membrana frágil e pouco esclerotizada, será provavelmente ingerida pela larva, daí não ser encontrada no serrim.



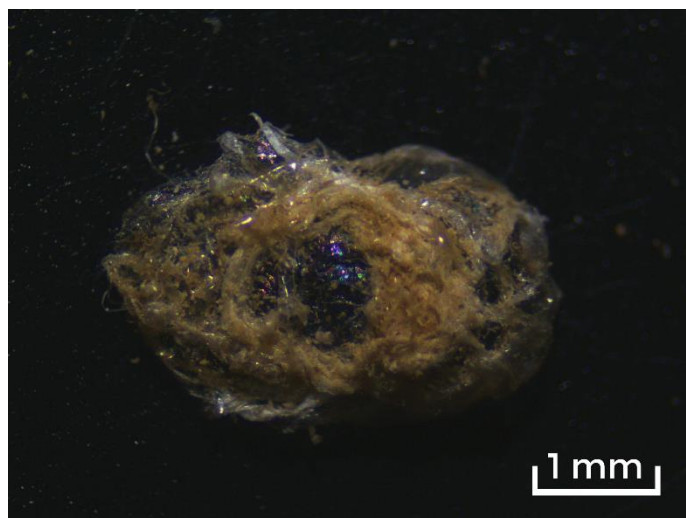
**Figura 34** – Estruturas altamente esclerotizadas de formato piramidal, encontradas no serrim proveniente das galerias das larvas de *Amphicerus bimaculatus*, correspondentes às mandíbulas dos instares larvares (original da autora).

Foi descoberta, também, outra estrutura diferente das anteriores no serrim presente nas galerias examinadas (Figura 35). Esta estrutura corresponde à cápsula cefálica do último instar larvar de *A. bimaculatus*, onde se encontram duas mandíbulas alinhadas na posição original. Neste caso, como a muda do último instar larvar origina uma pupa e esta cessa a sua alimentação, deixa intacta a cápsula cefálica. Repare-se na presença de dois filamentos laterais na cápsula cefálica. Estas poderão ser estruturas mais fibrosas do corpo da larva que, ao passarem pela muda, se destacam do corpo e permanecem íntegras. Booth *et al.* (1990) referiram que as larvas da família Bostrichidae podem por vezes ter um filamento esclerotizado oblíquo de cada lado do protórax.



**Figura 35** – Cápsula cefálica do último instar larvar de *Amphicerus bimaculatus*, estrutura encontrada no serrim presente nas galerias produzidas pelas larvas. À esquerda, vista externa, à direita, vista interna (original da autora).

Foi, ainda, possível encontrar uma membrana no serrim (Figura 36), correspondente à muda do último instar larvar.



**Figura 36** – Membrana correspondente à muda do último instar larvar de *Amphicerus bimaculatus*, presente nas galerias produzidas pelas larvas (original da autora).

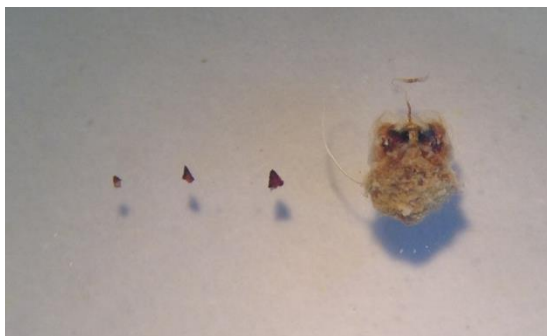
Esta membrana permanecerá intacta pelo facto de a pupa não se alimentar, explicando o facto de só se encontrar uma muda na galeria correspondente ao desenvolvimento de uma larva, visto que as mudas dos restantes instares larvares serão provavelmente predadas, por serem pouco esclerotizadas. Também esta apresenta dois filamentos laterais.

Conclui-se assim que os primeiros instares larvares de *A. bimaculatus* deixam para trás apenas as mandíbulas ao fazerem as mudas, mas o último instar larvar, por dar origem à pupa que suspende a



atividade alimentar, deixa intacta a muda completa correspondente à cápsula cefálica e à membrana do resto do corpo. Apenas as mandíbulas são altamente esclerotizadas, sendo o resto do corpo mais mole.

Não foi possível determinar o número exato de instares larvares no desenvolvimento de *A. bimaculatus* porque, apesar de, ao estudar o conteúdo de uma galeria isolada, se encontrarem mandíbulas de diversos tamanhos, correspondentes a diferentes instares, estes nunca se encontravam completos e emparelhados. Esta falha em encontrar todas as peças pode ser explicada pelo facto de as mandíbulas terem dimensões muito reduzidas (inferiores a 1 mm), tornando fácil a sua dissimulação no meio do serrim ou mesmo a sua perda. Contudo, foi possível isolar 3 mandíbulas de diferentes tamanhos, embora desemparelhadas, provenientes da galeria de uma larva e uma cápsula cefálica (Figura 37), sugerindo a existência de pelo menos 4 instares larvares.



**Figura 37** – Diferentes peças encontradas na galeria de uma larva de *Amphicerus bimaculatus*: três mandíbulas de diferentes tamanhos e uma cápsula cefálica (original da autora).

No decurso das recolhas de sarmentos em campo foi ainda possível observar pupas (Figura 38). Assim como para as larvas, os sarmentos com presença de pupas foram isolados e guardados em caixas até emergência de adultos, para comprovar que, efetivamente, se tratavam da espécie *A. bimaculatus*. A pupa, exarata, faz notar nitidamente os primórdios alares, as patas, os olhos e a armadura bucal.



**Figura 38** – Pupa de *Amphicerus bimaculatus* presente nos sarmentos recolhidos do campo nas vinhas estudadas (Palmela, Setúbal) (original da autora).

Foram ainda registados adultos recém-emergidos, que, por ainda se encontrarem em fase de maturação, não apresentam as colorações da forma final do adulto (Figura 39).



**Figura 39** – Adulto de *Amphicerus bimaculatus* em maturação. À esquerda, adulto branco recém-emergido e à direita, adulto já a adquirir as tonalidades da forma final (originais da autora).

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Ação na videira e prejuízos

Cada orifício encontrado nos sarmentos corresponde à entrada ou saída de um indivíduo. É provável que cada indivíduo efetue apenas um orifício, pois este pode servir como entrada e de saída. Será, portanto, de esperar que o número de orifícios por sarmento seja indicativo do número de indivíduos que ocupou o troço.

Analisando os resultados, pode-se concluir que a maioria dos sarmentos apresenta entre 1 e 2 orifícios. Contudo, verificam-se dois casos afastados da média correspondentes a sarmentos com 7 orifícios. Estes *outliers* podem ser explicados pelo facto de alguns sarmentos, por serem mais vigorosos ou mais compridos, suportarem maior quantidade de indivíduos.

Relativamente à distribuição de frequências, conclui-se que grande parte dos orifícios nos sarmentos se encontram distribuídos acima do 4º nó, apesar de se poderem encontrar orifícios ao longo de todo o sarmento.

As galerias criadas por *A. bimaculatus* destroem a medula da videira, levando a que a mesma seque a partir do ponto em que a circulação é interrompida. Abaixo das galerias, contudo, o crescimento pode continuar a ocorrer e os olhos não abrolhados permanecem viáveis. É fácil compreender que os estragos económicos mais significativos serão nas vinhas com condução *Guyot*, ao invés das vinhas com poda *Royat*, em que é deixada, por norma, a carga de dois olhos por talão.

O tipo de poda efetuado nas vinhas estudadas em Palmela, Setúbal, é poda *Royat*, isto é, a talão e podem, portanto, haver casos em que as galerias destruam a base dos talões comprometendo a carga à poda, e respetiva produção potencial. Ainda assim, em muitos dos sarmentos atacados podem não ser destruídos os primeiros nós, não sendo por isso comprometida a produção do ano seguinte.

As estimativas do prejuízo para as vinhas A, B e C, respetivamente 0,1%, 1,6% e 0,3%, são valores a ser analisados com alguma reserva, pois esta estimativa apresenta algumas falhas, visto que foram utilizados sarmentos de poda deixados no chão, que poderiam não estar completos. Para além disso, não estão a ser contabilizados os casos em que a galeria se prolonga para baixo do gomo da entrada, ou seja, ainda que não seja efetuado nenhum orifício nos primeiros olhos, a galeria pode, ainda assim, interromper a medula ao nível destes nós. Ainda assim, estes são valores indicativos que constituem uma primeira análise aos prejuízos causados por *A. bimaculatus* na cultura da vinha, que mostram que

o impacto desta praga ao nível da produção não é tão grande quanto se poderia pensar, não devendo, no entanto, ser menosprezado.

## **5.2. Mecanismos de seleção do hospedeiro e reação a estímulos**

Relativamente ao ensaio de campo em Palmela, Setúbal, os Bostrichidae da morfoespécie A e B foram capturados nas armadilhas transparentes com etanol, sugerindo uma atração dos indivíduos desta família por este atrativo. A captura dos exemplares da morfoespécie C da família Scolytidae, na armadilha transparente sem etanol dever-se-á apenas a uma intersecção e, por fim, a captura do exemplar da morfoespécie D, também escolítídeo, na armadilha Lindgren, é compreensível visto esta ser uma armadilha adequada à captura desta família.

Ainda assim, a captura de espécies de bostriquídeos e escolítídeos poderá indicar que existem mais espécies presentes a atacar a cultura da vinha, podendo estas também ser responsáveis pelas queixas dos viticultores. Estes indivíduos capturados podem, no entanto, ser apenas indivíduos passageiros, que se alimentem de pólen ou de outras fontes de alimento, e não de madeira.

O facto de não terem ocorrido capturas de *A. bimaculatus* no período de observação pode dever-se ao facto de os adultos de *A. bimaculatus* não estarem em período de voo durante o intervalo de tempo do ensaio de campo. A observação visual de indivíduos em voo, a 01/04/2015, ocorreu antes da instalação das armadilhas. Neste sentido, seria interessante testar armadilhas mais cedo, nomeadamente, de fevereiro a abril, e a partir de agosto novamente. A não ocorrência de capturas de *A. bimaculatus* pode ainda ser explicada pelo facto de as armadilhas escolhidas não serem as mais adequadas para a espécie em estudo.

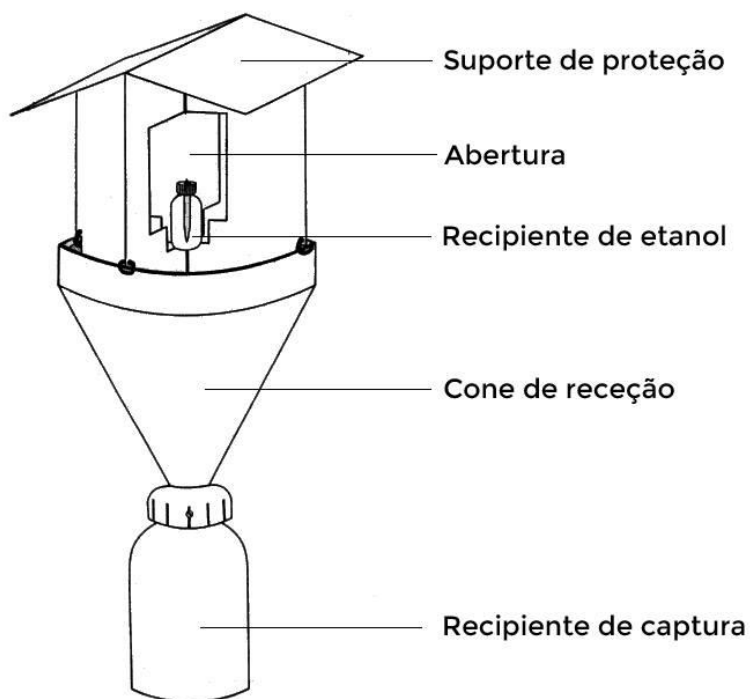
Pode, também, ter-se dado o caso de terem ocorrido capturas para a espécie *A. bimaculatus*, mas os indivíduos em questão, por serem relativamente grandes ou pesados, terem conseguido escapar das armadilhas com cola, não sendo por isso contabilizados.

Relativamente à armadilha *Lindgren*, por estar próxima à cabeceira de uma linha, esta era de fácil acesso a predadores, nomeadamente aranhas, formigas e lagartixas, que podem ter predado parte das capturas.

No futuro, é importante testar outros tipos de armadilhas, experimentando diferentes materiais ou formatos, usando cores e atrativos alternativos. É, também, importante tentar melhorar os pontos fracos das armadilhas experimentadas. No caso das placas acrílicas com cola, talvez um copo coletor



instalado abaixo das placas seja uma boa alternativa ao uso da cola. Uma sugestão para o futuro seria testar armadilhas etanólicas do tipo ESALQ-84, propostas por Flechtmann e Filho (1986) (Figura 40), onde se podem testar várias cores, não comprometendo as capturas, porque estas armadilhas possuem um copo coletor. No caso da armadilha *Lindgren*, seria importante tentar instalá-la mais afastada do chão e da vegetação, de forma a dificultar a entrada de predadores.



**Figura 40** – Armadilha etanólica modelo ESALQ-84 (adaptado de Flechtmann e Filho (1986)).

Relativamente ao ensaio da preferência cromática de *A. bimaculatus* a curta distância, é de notar que os resultados poderiam ser diferentes para uma sequência diferente das cores testadas. Apenas uma sequência foi testada. Os resultados obtidos podem ser explicados pelo facto de os machos e as fêmeas terem diferentes objetivos e motivações. O facto de não ter havido uma resposta clara por parte das fêmeas pode significar que os mecanismos de seleção do hospedeiro impliquem vários fatores, como mais que uma cor ou até outros estímulos, como atrativos químicos. A resposta não foi nítida porque podem ter sido sujeitas à experiência fêmeas em diferentes situações de fisiologia. As fêmeas fecundadas e em período de postura poderão ser mais ativas em explorar o ambiente visto que necessitam de sondar o hospedeiro com o objetivo da realização de posturas. Já os machos, após a fecundação das fêmeas, não têm a necessidade de exploração do ambiente a não ser para alimentação. Ainda assim, nada garante que, à data do ensaio, as fêmeas estivessem todas fecundadas, podendo por isso não terem os mesmos objetivos. Posto isto, é compreensível o facto de a análise estatística não ter verificado diferenças significativas na escolha da cor para as fêmeas. Muitas vezes

no decorrer do ensaio, as fêmeas exploravam até várias cores. Já nos machos, a análise estatística mostrou diferenças significativas nas cores testadas, sendo o preto a cor mais escolhida. Esta preferência poderá ser explicada pelo facto de o preto ser a cor mais semelhante ao abrigo conferido pelas galerias dos sarmentos.

### **5.3. Estudo dos estados de desenvolvimento de *Amphicerus bimaculatus***

Os trabalhos efetuados na vinha e no laboratório permitiram concluir que existe pelo menos uma geração anual de *A. bimaculatus* em Palmela, Portugal. Daqui, podemos inferir dois possíveis cenários. Pode dar-se o caso de os adultos da geração do ano encontrados nos sarmentos da lenha de poda aí permanecerem durante o inverno, só se reproduzindo na primavera seguinte. Neste caso, existiria uma geração anual, mas ficaria por explicar a presença de galerias detetadas pelos podadores na altura da poda. Este cenário é compatível com a hipótese colocada por Bahillo *et al.* (2007). Neste mesmo cenário, os adultos da segunda geração poderão levar a cabo ataques às videiras já atempadas, no final do verão, mas por motivos de alimentação e abrigo para o inverno seguinte. Esta hipótese vai de encontro à sugerida por Lucchi (2014), que atribui os estragos em videira à fase adulta da espécie, ao invés das formas larvares.

Pode, ainda, dar-se o caso de os adultos de segunda geração se reproduzirem no fim do verão, fazendo posturas nas videiras, que aqui já se encontrariam atempadas, sendo neste caso as larvas a protagonizarem os ataques às videiras, criando galerias alimentícias. Neste caso, existiriam duas gerações anuais. Há bases para considerar que o ataque nas videiras seja mais tardio, possivelmente após a vindima, quando a lenha se encontra mais atempada. Possivelmente, nem os adultos conseguem alimentar-se, nem as larvas se conseguem desenvolver em sarmentos herbáceos ou pouco atempados, daí que a geração do ano anterior tenha efetuado posturas na lenha de poda, dando origem ao desenvolvimento das larvas nestes troços. É ainda possível que parte da população encontre um hospedeiro alternativo para o seu desenvolvimento, em parte do seu ciclo de vida.

As galerias efetuadas nas videiras, quer as causadas pelas larvas, quer as causadas pela alimentação e abrigo dos adultos, seriam então detetáveis na altura da poda, explicando as queixas dos viticultores. Após a poda, a maioria dos indivíduos deixariam de estar conectados à videira e passariam a estar no chão, caso não houvesse recolha do material de poda.

Relativamente ao ensaio para a determinação da duração do tempo de vida do adulto de *A. bimaculatus* em cativeiro, apesar da ausência de diferenças significativas entre os sexos, a análise

permite indicar que os indivíduos adultos de *A. bimaculatus*, nas condições laboratoriais de cativeiro a que estiveram sujeitos, vivem, em média, 48 dias, independentemente do sexo.

Os resultados da análise da dimensão dos adultos de acordo com a geração devem ser analisados com alguma reserva, pois a amostra de indivíduos com restrição de alimento foi reduzida (N=7). Os indivíduos que estiveram sujeitos a restrição de alimento originaram adultos mais pequenos porque os estádios larvares não acumularam tantas reservas quanto podiam. O facto de apenas terem emergido 7 adultos nestas condições pode dever-se ao facto de as fêmeas da 1ª geração não terem efectuado tantas posturas nestas condições ou então as larvas não sobreviverem por falta de alimento. Note-se que os indivíduos utilizados para a primeira geração, por estarem mortos já há algum tempo, podem ter diminuído de tamanho devido à evaporação dos líquidos corporais. Esta possibilidade foi atenuada ao terem sido escolhidos os indivíduos da 1ª geração com as mortes mais recentes.

Relativamente ao ensaio para o estudo da biologia de *A. bimaculatus* no contexto da presença de hospedeiro vegetal, retiram-se várias conclusões. O comportamento xilófago desta espécie leva à perfuração da madeira e à criação de galerias, para alimentação mas também para abrigo. A tentativa de perfuração do sarmento por parte dos indivíduos adultos, mostra que os orifícios encontrados nos sarmentos não resultam apenas da saída dos indivíduos adultos após passarem pelos estados imaturos e completarem o seu desenvolvimento, mas também podem resultar da entrada de adultos, tanto para procura de abrigo como para alimentação.

É possível que a fecundação das fêmeas tenha sido anterior à realização do ensaio, nomeadamente quando ainda se encontravam no interior dos frascos com outros indivíduos ou mesmo quando ainda se encontravam em ambiente natural.

Os nós dos sarmentos e as zonas de corte foram os locais seleccionados pelas fêmeas para a postura. As zonas de corte dos sarmentos representam áreas fragilizadas e, por isso, de mais fácil penetração pelas larvas provindas da eclosão dos ovos.

A atividade superior das fêmeas em relação aos machos pode ser explicada pelo facto de se poderem encontrar, à data, dentro do período de postura, permanecendo ativas para se alimentarem e efectuarem posturas. O comportamento de procura e sondagem do substrato acarreta gastos de energia, daí ser essencial que as fêmeas se mantenham bem alimentadas para que os ovos sejam saudáveis e viáveis.

Por fim, a presença de galerias pequenas nos sarmentos das videiras comprova que de facto, os ovos observados, pertencentes à espécie *A. bimaculatus*, eclodiram, mas as larvas apenas se conseguiram desenvolver até parte do seu desenvolvimento porque a forma adulta não emergiu nem

foi detetada. O facto de as larvas não terem sobrevivido pode dever-se a vários fatores. A casta das videiras, Aragonez, pode ser desadequada ao desenvolvimento das larvas e, o facto de as videiras serem jovens, saudáveis e vigorosas pode também ter contribuído para a morte dos indivíduos. No futuro, fará mais sentido usar videiras da casta Castelão em vez de Aragonez, pois sabe-se, à partida, que *A. bimaculatus* consegue sobreviver nesta variedade.

Por fim, relativamente à determinação do número de instares larvares de *A. bimaculatus*, foram encontradas várias estruturas correspondentes às mudas das larvas no serrim proveniente das galerias larvares, sendo estas mandíbulas, cápsulas cefálicas e membranas. Concluiu-se que existem pelo menos, 4 instares larvares.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo levou a diferentes conclusões acerca das diversas matérias da bioecologia de *Amphicerus bimaculatus* que podem ter contributos proveitosos no que diz respeito aos meios de proteção da cultura da vinha em relação a esta praga.

O estudo da ação de *A. bimaculatus* em videira permitiu calcular uma estimativa do prejuízo causado pela praga nas vinhas estudadas. As diferentes armadilhas testadas em campo e o ensaio da preferência cromática de *A. bimaculatus* permitiram uma primeira abordagem aos mecanismos de seleção do hospedeiro a curta e longa distância. O estudo dos diferentes estados de desenvolvimento permitiu acompanhar os estados imaturos, obtendo vários registos fotográficos e de vídeo que auxiliam numa melhor identificação da praga em campo. Foi ainda possível levantar hipóteses acerca do seu ciclo de vida em Palmela, Portugal.

Devido ao tipo de bioecologia da espécie, a proteção da cultura da vinha, relativamente a esta praga, deve compreender essencialmente a luta cultural. A luta química da população da praga será sempre menos eficaz no sentido em que é um investimento sem garantias de sucesso. Dada a natureza críptica da espécie, a maior parte do seu ciclo de vida é passado dentro das galerias que constroem, tornando-se difícil o ataque através de químicos, uma vez que se encontram protegidos pela madeira. Não existem de momento, substâncias ativas homologadas para o combate desta espécie, na cultura da vinha.

É recomendável a remoção e queima da lenha de poda, garantindo a eliminação ou, pelo menos, uma redução acentuada dos níveis da população da praga. É crucial não deixar restos de poda na superfície do terreno, quer nas entrelinhas, quer na envoltória das vinhas. No mínimo, para o viticultor que não queira abdicar de manter a lenha de poda na vinha, quer por motivos económicos quer para aproveitamento da lenha de poda para restituição de matéria orgânica ao solo, será aconselhável destroçar os sarmentos de poda e incorporá-los no substrato, promovendo a sua decomposição e a morte dos indivíduos. Esta hipótese será menos eficaz, visto que haverá sempre material não incorporado ou enterrado parcialmente, mantendo viva parte da população. No caso de o viticultor querer aproveitar a lenha de poda para combustível, esta deve ser guardada num local totalmente fechado, garantindo que os adultos emergidos não conseguem escapar.

Ainda assim, é importante instruir os podadores a estarem atentos ao ataque da praga e, no caso de serem encontradas galerias aquando da poda, estas deverão ser suprimidas na sua totalidade, cortando o sarmento até ser necessário, garantindo que todos os insetos são eliminados. Estes

sarmentos deverão sempre ser destruídos através da queima. Ainda assim, esta prática seria falível pois no caso de o podador cortar o sarmento abaixo ou acima da galeria, a mesma passaria despercebida.

No futuro, seria importante prosseguir o estudo, com vista a aprofundar o conhecimento acerca desta praga. É importante testar novas armadilhas, assim como validar as hipóteses colocadas neste estudo relativamente ao ciclo anual da espécie, tentando confirmar o número de gerações anuais, e ainda tentar estudar a curva de voo de *A. bimaculatus*, percebendo melhor o seu ciclo biológico. É pertinente o estudo de metodologias para a estimativa do risco e do prejuízo da praga. Seria ainda interessante a prospeção da disseminação desta praga no território português. Por fim, seria útil tentar estabelecer o estatuto desta espécie como praga a nível nacional, promovendo a sua menção nos guias de proteção integrada.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaro, P., 2003. A Protecção Integrada. ISA Press, 446 pp.

AVIPE, Ana Teresa Fernandes, 2015. Comunicação pessoal.

Bahillo de la Puebla, P. e López-Colón, J. I., 2001. Los Bostrichidae Latreille, 1802 de la Comunidad Autónoma Vasca y áreas limítrofes (Coleoptera). *Heteropterus Revista de Entomología* - 1: 25-40.

Bahillo de la Puebla, P.; López-Colón, J. I.; Baena, M., 2007 Los Bostrichidae Latreille, 1802 de la fauna íbero-balear (Coleoptera) *Heteropterus Revista de Entomología* - 7 (2): 147-227.

Baena, M. e Zuzarte, A. J., 2013. Contribución al estudio de los Bostríquidos de Portugal y actualización del catálogo de la fauna ibérica (Coleoptera, Bostrichidae). *Zool. baetica* – 24: 25-51.

Booth, R. G.; Cox, M. L.; e Madge, R. B., 1990 IIE Guides to Insects of Importance to Man: 3. Coleoptera. CAB International, 384 pp.

Borowski, J. e Węgrzynowicz, P., 2007 World Catalogue of Bostrichidae (Coleoptera). Wydawnictwo Mantis, Olsztyn, 247 pp. (*cit. in* Baena e Zuzarte, 2013).

Böving, A. G.; Craighead, F. C., 1931 An illustrated synopsis of the principal larval forms of the order Coleoptera. Brooklyn Entomological Society. Vol. 125, 351 pp.

Campos, L. P. M. S., 2008. Efeito de factores de natureza visual na localização de fontes de ferormona pelos machos de cochonilha algodão dos citrinos, *Planococcus citri* (Risso). Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica, Instituto Superior de Agronomia/UTL, Lisboa.

Ciampolini, M.; Corazza, F. e Lunghini, D., 1989 Danni di *Amphicerus bimaculatus* alla Vite nel Lazio. *L'Informatore Agrario* – 45(5): 93-95.

Cline, A.; Ivie, M. A.; Bellamy, C. L.; Scher, J., 2009 A Resource for Wood Boring Beetles of the World: Wood Boring Beetle Families. Lucid v. 3.4. USDA/APHIS/PPQ Center for Plant Health Science and Technology, Montana State University, and California Department of Food and Agriculture. Disponível em: <http://idtools.org/id/wbb/families/index.htm> Acedido a: 01/09/2015.

Comissão Vitícola Regional da Península de Setúbal, 2013 Viticultura e Vinhas. Disponível em: <http://www.vinhosdapeninsuladesetubal.pt/CVRPS/inicio.aspx> Acedido a: 03/09/2015.

Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR), 2005 Produção Integrada da vinha. Disponível em: [www.drapc.min-agricultura.pt/](http://www.drapc.min-agricultura.pt/) Acedido a: 24/09/2015.

Direcção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural (DGADR), 2010 Produção Integrada do Olival. Disponível em: [www.drapc.min-agricultura.pt/](http://www.drapc.min-agricultura.pt/) Acedido a: 24/09/2015.

Filho, O. P.; Barbosa, J. I.; Souza, M. D. e Dorval, A., 2012 Altura de voo de bostríquídeos (Coleoptera: Bostrichidae) coletados em Floresta Tropical Semidecídua, Mato Grosso. Pesquisa Florestal Brasileira, Vol. 32, No. 69: 101-107

Fisher, W. S., 1950 A revision of the North America Species of Beetles belonging to the family Bostrichidae. United States Department of Agriculture Miscellaneous Publications - 698: 1-157.

Flechtmann, C. A. H.; Filho E. B., 1986 A Model of Ethanol Trap to Collect Scolytidae and Platypodidae (Insecta, Coleoptera). IPEF. Piracicaba, (34): 53-56.

Flechtmann, C. A. H.; Teixeira, É. P.; Gaspareto, C. L., 1996 Bostrichidae (Coleoptera) capturados em armadilhas iscadas com etanol em pinheiros tropicais na região de Agudos, SP. Rev. Inst. Flor., São Paulo, 8(1): 17-44.

Flechtmann, C. A. H.; Gaspareto, C. L.; Teixeira, É. P., 1997 Influência de cores na atração de Bostrichidae (Coleoptera) em área de pinheiro tropical em Agudos, SP. Rev. Inst. Flor., São Paulo, 9(1): 1-17.

Google Maps, 2015 Disponível em: <http://maps.google.pt> Acedido a: 27/09/15

Gumovsky, A. V., 2010. A record of *Sinoxylon anale* Lesne in Ukraine with notes on false powder-post beetles (Coleoptera: Bostrichidae) and their chalcidoid parasitoids (Hymenoptera). Ukrainska Entomofaunistyka, 1(2): 1-8.

Infovini, 2009 Península de Setúbal Disponível em: <http://www.infovini.com/index.php> Acedido a: 03/09/2015

Instituto Nacional de Estatística, 2014 Estatísticas territoriais. Disponível em: <http://www.ine.pt> Acedido a 03/10/2015

Integrated Taxonomic Information System on-line database, 2015. Disponível em: <http://www.itis.gov> Acedido a: 15/09/2015

Ivie, M. A, 2010 Additions and corrections to Borowski and Węgrzynowicz's world catalogue of Bostrichidae (Coleoptera). Zootaxa 2498: 28-46

LeCato, G. L.; Flaherty, B. R., 1974 Description of Eggs of Selected Species of Stored-Product Insects (Coleoptera and Lepidoptera). Journal of the Kansas Entomological Society, Vol. 47, No. 3 – 7: 308-317



López-Pérez, J. J., 2012 Los Bostrichidae Latreille, 1802 (Coleoptera, Bostrichoidea) de la provincia de Huelva (S. O. de Andalucía, España). Revista gaditana de Entomología, Vol. III, No. 1-2: 23-28

Lucchi, A., 2014 Note di entomologia viticola. Pisa University Press, 223 pp.

Martin, P. e Bateson P., 1993 Measuring behaviour: An introductory guide. Cambridge University Press. 222 pp.

Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2014 Guía de Gestión Integrada de Plagas para el cultivo de Uva de Transformación, 203 pp.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 1992 Los Parasitos de la Vid: Estrategias de Protección Razonada. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 304 pp.

Moleas, T., 1988 Osservazioni epidemiologiche su *Sinoxylon sexdentatum* Oliv. e *Amphicerus* (= *Schistoceros*) *bimaculatus* Oliv. (Coleoptera, Bostrychidae) sulla vite in Puglia. Informatore Fitopatologico 38(5): 55-58.

Moreira, U., 2015 Práticas de Sanidade da Videira: Doenças e pragas da videira. Publindústria. 75 pp.

Nardi, G., Zahradník, P., 2004 Bostrichidae and Anobiidae (Coleoptera). Conservazione habitat invertebrate - 3/2004: 125-139

Nardi, G. e Mifsud, D., 2015 The Bostrichidae of the Maltese Islands (Coleoptera). ZooKeys 481: 69-108

Peris, D.; Delclòs, X.; Soriano, C.; Perrichot, V., 2014 The earliest occurrence and remarkable stasis of the family Bostrichidae (Coleoptera: Polyphaga) in Cretaceous Charentes amber. Paleontologia Electronica 17(1): 14<sup>a</sup>, 8 pp. Disponible em: <http://palaeo-electronica.org/content/2014/706-new-cretaceous-auger-beetle> Acedido a 16/08/2015

Saivanidis, J. C., 2013 Selecting the host *Amphicerus bimaculatus*. Master thesis. School of Agricultural Technology - Department of Crop Production. Creta, Grécia

Ślipiński, A., Lawrence, J., 2013 Australian beetles Vol. 1: Morphology, classification and keys. CSIRO Publishing, 576 pp. Disponible (parcial) em: [https://books.google.pt/books?id=0YEHAQAAQBAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.pt/books?id=0YEHAQAAQBAJ&redir_esc=y) Acedido a: 28/08/2015

Tsagkarakis, A. E., 2012 First record of *Siphoninus phillyreae* on pomegranate in Greece. Entomologia Hellenica 21: 39-43

## 8. ANEXOS

**Anexo 1** – Estatística descritiva exploratória, com variável dependente nº de orifícios por sarmento.

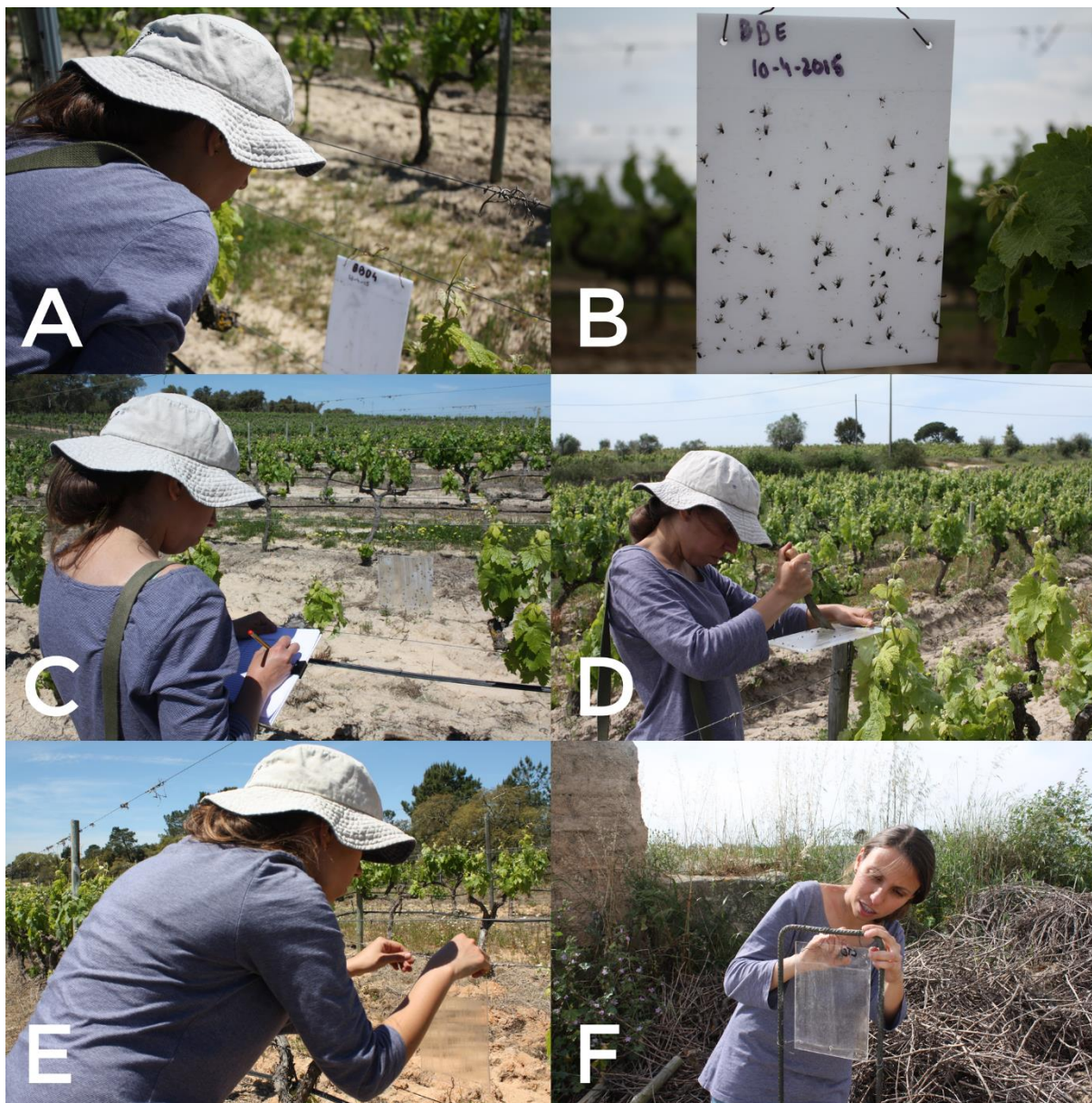
**Resumo de processamento do caso**

	Casos					
	Válido		Ausente		Total	
	N	Porcentagem	N	Porcentagem	N	Porcentagem
orificiossar	106	100,0%	0	0,0%	106	100,0%

**Descritivos**

		Estatística	Erro Padrão
orificiossar	Média	1,40	,090
	95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	1,22
		Limite superior	1,57
	5% da média aparada	1,26	
	Mediana	1,00	
	Variância	,851	
	Desvio Padrão	,923	
	Mínimo	1	
	Máximo	7	
	Intervalo	6	
	Intervalo interquartil	1	
	Assimetria	4,466	,235
	Curtose	24,630	,465

**Anexo 2** – Procedimento efetuado em campo (**A** – observação e contagem de indivíduos capturados; **B** – pormenor de armadilha com exemplares capturados; **C** – anotação das ordens capturadas; **D** – limpeza da placa com recurso a uma espátula metálica; **E** – recolocação da armadilha, já limpa e **F** – identificação da armadilha com código e data).

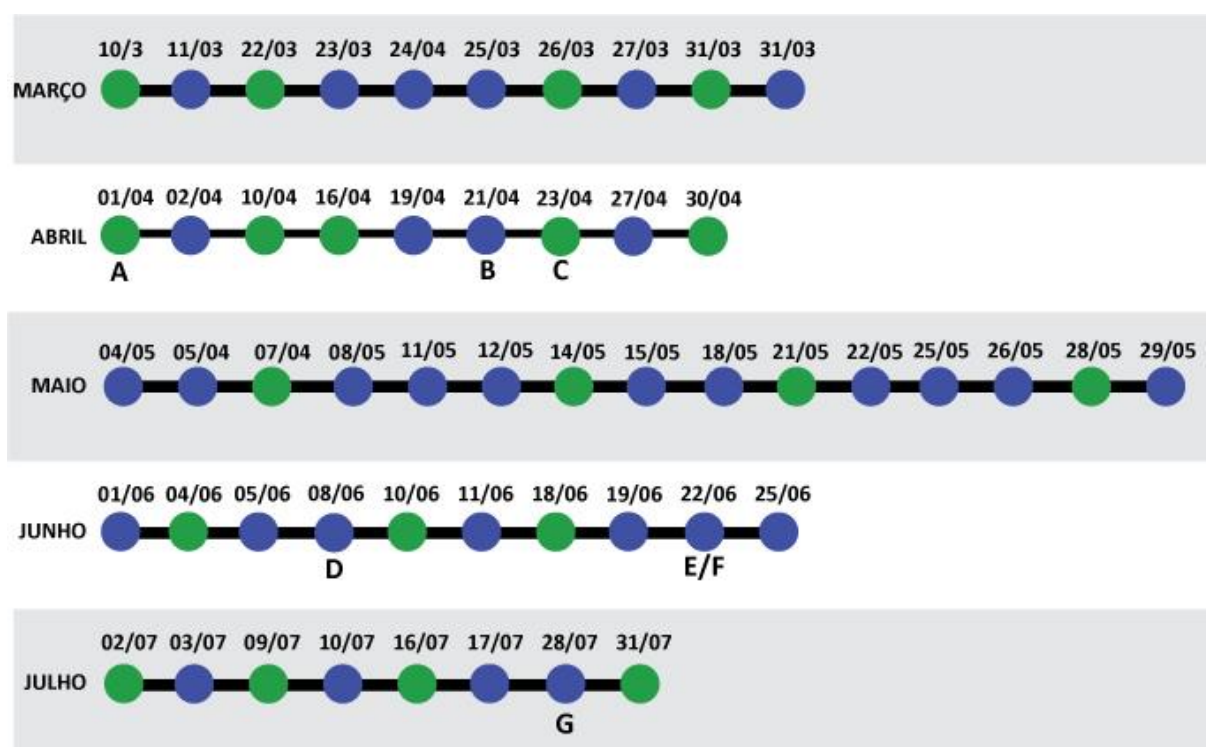




**Anexo 3** – Procedimento em campo para inspeção e limpeza da armadilha *Lindgren* (**A** – detalhe do frasco com atrativo alfa-Pineno **B** – verificação do nível do frasco com atrativo alfa-Pineno; **C** – inspeção do copo coletor, anotação das capturas e limpeza do mesmo).



**Anexo 4** – Cronologia de alguns dos trabalhos práticos efetuados, sem discriminação de tarefas à exceção dos eventos mais relevantes.



● campo

● laboratório

A - Instalação das armadilhas acrílicas

B - Início do ensaio de preferência cromática a curta distância

C - Instalação da armadilha *Lindgren*

D - Início do ensaio em videira da casta Aragonez

E - Fim do ensaio de preferência cromática a curta distância

F - Observação das primeiras posturas

G - Fim do ensaio em videira da casta Aragonez

**Anexo 5** – Estatística de teste  $\chi^2$  para o ensaio da preferência cromática de *Amphicerus bimaculatus* a curta distância, para as fêmeas e machos, respetivamente.

### Resumo de Teste de Hipótese

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	As categorias de cores ocorrem com probabilidades iguais.	Teste Qui-Quadrado de Uma Amostra	,528	Reter a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

<b>N Total</b>	36
<b>Estatística de teste</b>	2,222
<b>Grau de liberdade</b>	3
<b>Sig. assintótico (teste de 2 lados)</b>	,528

### Resumo de Teste de Hipótese

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	As categorias de cores ocorrem com probabilidades iguais.	Teste Qui-Quadrado de Uma Amostra	,000	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

<b>N Total</b>	35
<b>Estatística de teste</b>	26,829
<b>Grau de liberdade</b>	3
<b>Sig. assintótico (teste de 2 lados)</b>	,000

**Anexo 6** – Análise estatística para o ensaio da duração do tempo de vida de *Amphicerus bimaculatus* em cativeiro. (1= Macho; 2= Fêmea)

Resumo de processamento do caso						
sexo	Casos					
	Válido		Ausente		Total	
	N	Porcentagem	N	Porcentagem	N	Porcentagem
duração 1	67	100,0%	0	0,0%	67	100,0%
2	51	100,0%	0	0,0%	51	100,0%

Descritivos					Estatística	Erro Padrão
sexo						
duração	1	Média			48,21	2,858
		95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior		42,50	
			Limite superior		53,92	
		5% da média aparada			48,65	
		Mediana			44,00	
		Variância			547,350	
		Desvio Padrão			23,396	
		Mínimo			4	
		Máximo			85	
		Intervalo			81	
		Intervalo interquartil			47	
		Assimetria			-,213	,293
		Curtose			-1,229	,578
	2	Média			49,00	2,927
		95% Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior		43,12	
			Limite superior		54,88	
		5% da média aparada			49,63	
		Mediana			55,00	
		Variância			436,920	
		Desvio Padrão			20,903	
		Mínimo			4	
		Máximo			78	
		Intervalo			74	
		Intervalo interquartil			35	
		Assimetria			-,534	,333
		Curtose			-,883	,656

Anexo 6 (continuação)

ANOVA

duração

	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	18,120	1	18,120	,036	,849
Nos grupos	57971,075	116	499,751		
Total	57989,195	117			



**Anexo 7** - Análise das dimensões de acordo com o sexo (F, m) e a geração (1ª geração, 2ª geração sem restrição de alimento e 2ª geração com restrição de alimento), respetivamente.

#### ANOVA

dimensão

	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	,081	1	,081	,117	,734
Nos grupos	24,283	35	,694		
Total	24,364	36			

#### ANOVA

dimensão

	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	12,321	2	6,160	17,391	,000
Nos grupos	12,044	34	,354		
Total	24,364	36			

#### Comparações múltiplas

Variável dependente: dimensão

Tukey HSD

(I) geração	(J) geração	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
1,00	2,00	,08000	,21733	,928	-,4525	,6125
	3,00	1,51048	,27243	,000	,8429	2,1781
2,00	1,00	-,08000	,21733	,928	-,6125	,4525
	3,00	1,43048	,27243	,000	,7629	2,0981
3,00	1,00	-1,51048	,27243	,000	-2,1781	-,8429
	2,00	-1,43048	,27243	,000	-2,0981	-,7629

#### dimensão

Tukey HSD

geração	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3,00	7	7,0429	
2,00	15		8,4733
1,00	15		8,5533
Sig.		1,000	,947